

**Titre:** Développement d'une approche biologique de dénitrification des effluents des mines d'or à l'échelle de laboratoire

**Auteur:** Rayen Tanabene

**Date:** 2016

**Type:** Mémoire ou thèse / Dissertation or Thesis

**Référence:** Tanabene, R. (2016). Développement d'une approche biologique de dénitrification des effluents des mines d'or à l'échelle de laboratoire [Mémoire de maîtrise, École Polytechnique de Montréal]. PolyPublie. <https://publications.polymtl.ca/2418/>

 **Document en libre accès dans PolyPublie**  
Open Access document in PolyPublie

**URL de PolyPublie:** <https://publications.polymtl.ca/2418/>

**Directeurs de recherche:** Carmen Mihaela Neculita, Bruno Bussière, Thomas Genty, & Robin Potvin

**Programme:** Génie minéral

UNIVERSITÉ DE MONTRÉAL

DÉVELOPPEMENT D'UNE APPROCHE BIOLOGIQUE DE DÉNITRIFICATION DES  
EFFLUENTS DES MINES D'OR À L'ÉCHELLE DE LABORATOIRE

RAYEN TANABENE

DÉPARTEMENT DES GÉNIES CIVIL, GÉOLOGIQUE ET DES MINES

ÉCOLE POLYTECHNIQUE DE MONTRÉAL

MÉMOIRE PRÉSENTÉ EN VUE DE L'OBTENTION

DU DIPLÔME DE MAÎTRISE ÈS SCIENCES APPLIQUÉES

(GÉNIE MINÉRAL)

DÉCEMBRE 2016

UNIVERSITÉ DE MONTRÉAL

ÉCOLE POLYTECHNIQUE DE MONTRÉAL

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC EN ABITIBI-TÉMISCAMINGUE

Ce mémoire intitulé :

DÉVELOPPEMENT D'UNE APPROCHE BIOLOGIQUE DE DÉNITRIFICATION DES  
EFFLUENTS DES MINES D'OR À L'ÉCHELLE DE LABORATOIRE

présenté par : TANABENE Rayen

en vue de l'obtention du diplôme de : Maîtrise ès sciences appliquées

a été dûment accepté par le jury d'examen constitué de :

M. COURCELLES Benoît, Doctorat, président

Mme NECULITA Carmen Mihaela, Ph.D., membre et directrice de recherche

M. BUSSIÈRE Bruno, Ph.D., membre et codirecteur de recherche

M. GENTY Thomas, Ph.D., membre et codirecteur de recherche

M. POTVIN Robin, Ph.D., membre et codirecteur de recherche

M. BLAIS Jean François, Ph.D., membre

## DÉDICACE

*À mon grand-père qui nous a quitté dernièrement ...*

*À mon père qui m'a toujours donné la force dans la vie ...*

*À ma mère, ma reine et ma plus chère au monde ...*

*À ma sœur, le plus précieux cadeau de mes parents ...*

*Je dédie ce travail !*

## REMERCIEMENTS

C'est avec un grand plaisir que je réserve cette page en signe de gratitude et de profonde reconnaissance à tous ceux qui ont bien voulu apporter l'assistance nécessaire au bon déroulement de ce travail.

Je tiens tout d'abord à exprimer mon grand respect et mes sincères remerciements à Carmen Mihaela Neculita, ma directrice de recherche à l'UQAT, pour la confiance qu'elle m'a accordée en acceptant de me diriger pour ce projet de maîtrise. Qu'elle trouve dans ce travail l'expression de ma profonde gratitude. C'est grâce à ton partage d'expérience, tes conseils pertinents et la bonne gestion dans les moments difficiles du projet que ce travail trouve le jour.

Je tiens à remercier Thomas Genty, mon co-directeur dans ce projet, à qui je dois beaucoup dans la réalisation des travaux de laboratoire. Merci de ton aide et de tes conseils dans les périodes de bas. Ceci m'a éclairé durant les moments difficiles.

Mes vifs remerciements s'adressent également à mes deux co-directeurs Bruno Bussière et Robin Potvin, qui ont accepté de me superviser durant ce projet. J'aimerais témoigner du plaisir qu'était pour moi de travailler sous leurs directives.

Mes remerciements vont également au Conseil de recherches en sciences naturelles et en génie (CRSNG) qui a financé ce projet ainsi qu'aux partenaires industriels de l'Institut de recherche en mines et en environnement (IRME) UQAT-Polytechnique (Agnico Eagle, Mine Canadian Malartic, Iamgold Corporation, Mine Glencore Raglan et Rio Tinto) et à l'entreprise Mabarex.

Je tiens à remercier spécialement à la chercheuse postdoctorale Carolina Gonzalez-Merchan, pour son assistance, son soutien, ses encouragements et ses précieux conseils qui m'ont guidé surtout lors de la rédaction de ce mémoire. C'est grâce à ta compétence que je trouve la mienne.

Je voudrais également exprimer ma gratitude particulièrement à Sabrina Castelli, Félicia Porqueres, Sabah Lounate Khalifa, André Gélinas, Daniel Camara, Marc Paquin ainsi que toute l'équipe du Centre technologique des résidus industriels (CTRI) et de l'Unité de recherche et de service en technologie minérale (URSTM-IRME) ; ce fut un plaisir de travailler avec vous tous.

Je m'arrête dans ces lignes aussi pour souligner l'effort et montrer ma gratitude envers le cadre administratif du CTRI, de l'IRME et de l'UQAT ; je garde de cette expérience partagée avec vous de très beaux souvenirs.

Un grand merci aux personnes qui me sont les plus proches : ma famille et mes amis qui ont toujours cru en moi et étaient toujours présents avec les encouragements et le support moral durant l'élaboration du projet.

Finalement, j'exprime ma reconnaissance à l'égard de tous ceux qui ont contribué à ma formation depuis mon âge de fleur et particulièrement les enseignants de l'Institut National des Sciences Appliquées et de Technologie de Tunis, les enseignants de l'Université du Québec en Abitibi-Témiscamingue et aux membres du Jury qui m'ont fait l'honneur de bien vouloir accepter d'évaluer ce travail. Aujourd'hui devant vous je ne suis qu'un fruit de tous ceux qui ont précédés et qui ont planté d'une manière ou d'une autre une petite graine pour qu'elle fleurisse en moi.

## RÉSUMÉ

La gestion responsable des effluents cyanurés constitue un défi majeur pour les mines d'or en raison, entre autres, de la pollution azotée qu'ils peuvent contenir et nécessitant un traitement efficace. Les thiocyanates ( $\text{SCN}^-$ ) sont parmi ces composés azotés majeurs, en plus de l'azote ammoniacal ( $\text{N-NH}_3$ ), les nitrites ( $\text{NO}_2^-$ ) et les nitrates ( $\text{NO}_3^-$ ). Les  $\text{SCN}^-$  sont formés lors de l'extraction de l'or et de l'argent par les cyanures dans des gisements contenant le soufre, via la cyanuration [utilisation des cyanures ( $\text{CN}^-$ ) pour la séparation de l'or et de l'argent, à pH alcalin]. La pollution azotée ( $\text{SCN}^-$ ,  $\text{N-NH}_3$ ,  $\text{NO}_2^-$  et  $\text{NO}_3^-$ ), ensemble avec les  $\text{CN}^-$  résiduels présentent aussi un grand enjeu environnemental à cause la toxicité aquatique engendrée. De plus, l'utilisation des explosifs (ANFO : Ammonia Nitrogen Fuel Oil), lors des étapes d'extraction des minerais, présente une autre origine majeure de la pollution azotée dans les effluents miniers, entre autres les effluents des mines d'or. Les explosifs entraînent surtout du  $\text{N-NH}_3$  et des  $\text{NO}_3^-$  dans l'eau. Le  $\text{N-NH}_3$  est toxique pour les écosystèmes aquatiques. De plus, il peut former les  $\text{NO}_3^-$  en consommant l'oxygène dissout ce qui peut causer, à long terme, l'eutrophisation des eaux. La mine LaRonde, propriété d'Agnico Eagle Ltée, utilise un procédé chimique dans une usine de traitement de l'eau (UTE), pour traiter les  $\text{CN}^-$ . Toutefois, ce traitement est peu efficace pour les  $\text{SCN}^-$  et génère du  $\text{N-NH}_3$  résiduel qui doit être ensuite traité. Une étape subséquente de traitement biologique, dans une usine de traitement finale de l'eau (UTFE), permet de dégrader les  $\text{CN}^-$  résiduels, le  $\text{N-NH}_3$  et les  $\text{SCN}^-$  en les oxydant en  $\text{NO}_3^-$ , carbonates ( $\text{CO}_3^{2-}$ ) et sulfates ( $\text{SO}_4^{2-}$ ). L'effluent final respecte les normes de qualité physico-chimique et de toxicologie aquatique. Enfin, la dénitrification biologique de l'effluent final produit par UTE/UTFE semble être une alternative durable respectueuse de l'environnement. Elle pourrait permettre d'enlever le  $\text{NO}_3^-$  en le transformant en diazote gazeux ( $\text{N}_2$ ), gaz inerte et non toxique.

Dans ce contexte, l'objectif de la présente étude a été d'évaluer la performance d'un procédé de nitrification-dénitrification biologique sur l'effluent de la mine LaRonde contenant des concentrations élevées de  $\text{SCN}^-$  ( $453 \pm 53$  mg/L) et de  $\text{N-NH}_3$  ( $41 \pm 8$  mg/L), à pH alcalin (7,5-8,4). Dans un premier volet, l'efficacité de différents scénarios de dénitrification a été validée en variant le substrat [carbone organique (bois, méthanol et éthanol), carbone minéral ( $\text{SCN}^-$ ), et Anammox ( $\text{N-NH}_3$ )] en batch/fed-batch sur un effluent synthétique et les meilleurs ont été

retenus. Dans un deuxième volet, l'efficacité d'un pilote de nitrification-dénitrification avec écoulement a été validée sur les scénarios retenus lors des essais en batch et fed-batch et appliqués sur l'effluent réel de la mine LaRonde. Les résultats ont mis en évidence les éléments suivants :

(i) la dénitrification de l'effluent synthétique, utilisant le méthanol comme source de carbone et les  $\text{NO}_2^-$  comme accepteur d'électrons, a été le meilleur scénario avec une efficacité >99%, en batch, et 95%, en fed-batch. Par contre, la dénitrification utilisant les  $\text{SCN}^-$  comme source de carbone minéral n'a pas montré une efficacité prometteuse en fed-batch (une diminution progressive de l'efficacité de dénitrification avec les  $\text{NO}_2^-$  comme accepteur d'électrons et aucune efficacité de dénitrification avec les  $\text{NO}_3^-$ ). Enfin, les autres scénarios testés en batch et en fed-batch ont donné des résultats moins prometteurs, y compris l'approche Anammox. Parmi les approches évaluées, l'utilisation du bois attaqué par la carie/pourri (prédigéré par les champignons) comme source de carbone a été trouvée la moins efficace en dénitrification.

(ii) le système pilote de nitrification-dénitrification (avec écoulement) de l'effluent réel a permis d'enlever les  $\text{SCN}^-$  et les  $\text{NO}_3^-$  à des efficacités supérieures à 97% et à 80%, respectivement. Le méthanol comme source de carbone a permis de traiter >80% des  $\text{NO}_3^-$  pour tous les temps de rétention hydraulique (TRH) testés avec un maximum d'efficacité de 96%. De plus, le TRH et les facteurs de dilution induits par les recirculations influençaient beaucoup ces efficacités. Selon les bilans d'azote, la dénitrification utilisant les  $\text{SCN}^-$  était peu efficace et la diminution des concentrations des  $\text{SCN}^-$  et des  $\text{NO}_3^-$  dans l'étape de pré-dénitrification était principalement le résultat de la dilution par recirculation de l'effluent. Les résultats du système pilote de traitement se sont avérés prometteurs. Enfin, les résultats des travaux en cours et à venir vont permettre d'optimiser les critères de design d'un système de traitement à grande échelle



## ABSTRACT

The management of cyanide contaminated effluents is a challenge for the gold mines due to the presence of nitrogen pollution they may contain which requires efficient treatment. Thiocyanate ( $\text{SCN}^-$ ) are among these major nitrogen compounds, in addition to ammonia nitrogen ( $\text{NH}_3\text{-N}$ ), nitrites ( $\text{NO}_2^-$ ), and nitrates ( $\text{NO}_3^-$ ). The  $\text{SCN}^-$  are formed during the extraction of gold and silver by cyanides in deposits containing sulfur via cyanidation [use of cyanide ( $\text{CN}^-$ ) in gold and silver separation, at alkaline pH]. The nitrogen pollution ( $\text{SCN}^-$ ,  $\text{NH}_3\text{-N}$ ,  $\text{NO}_2^-$  et  $\text{NO}_3^-$ ), together with residual  $\text{CN}^-$  are an important environmental issue because of the aquatic toxicity they can cause. In addition, the use of explosives (ANFO : Ammonia Nitrate Fuel Oil) during the mineral extraction entails another major source of nitrogen pollution in mine effluents, including gold mine effluents, leading to  $\text{NH}_3\text{-N}$  and  $\text{NO}_3^-$  in water.  $\text{NH}_3\text{-N}$  is toxic to aquatic life. Moreover, it can form  $\text{NO}_3^-$  by consuming dissolved oxygen and cause further eutrophication of natural streams. LaRonde mine, property of Agnico Eagle Mines Ltd., uses a chemical treatment in a water treatment plant (UTE) to remove the  $\text{CN}^-$ . However, this treatment is ineffective for  $\text{SCN}^-$  and generates residual  $\text{NH}_3\text{-N}$ , which has to be treated afterwards. Subsequent biological treatment, in a final water treatment plant (UTFE), allows degradation of residual  $\text{CN}^-$ ,  $\text{NH}_3\text{-N}$  and  $\text{SCN}^-$  by oxidizing them into  $\text{NO}_3^-$ , carbonates ( $\text{CO}_3^{2-}$ ) and sulfates ( $\text{SO}_4^{2-}$ ). The final effluent meets the physicochemical and toxicity quality regulations. Finally, biological denitrification of the effluent produced at the outlet of UTE/UTFE can be an environmentally friendly solution to remove the  $\text{NO}_3^-$  and transform it into di-nitrogen gas ( $\text{N}_2$ ), non-toxic and inert.

In this context, the objective of this study was to evaluate the performance of a nitrification-denitrification biological process on a gold mine effluent containing high concentrations of  $\text{SCN}^-$  ( $435 \pm 53$  mg/L) and  $\text{NH}_3\text{-N}$  ( $41 \pm 8$  mg/L), at alkaline pH (7,5-8,4). In the first step, the effectiveness of different denitrification scenarios was evaluated by varying the substrate [organic carbon (wood, ethanol, and methanol), mineral carbon ( $\text{SCN}^-$ ), and  $\text{NH}_3\text{-N}$  (Anammox)] in batch/fed-batch applied on a synthetic effluent, and the best scenarios were selected. In the second step, the efficiency of nitrification-denitrification pilot (with continuous flow) was validated, according to the selected scenarios used in tests in batch and fed-batch and applied on the real effluent from LaRonde mine. The results highlighted the following elements:

(i) the denitrification of the synthetic effluent (using methanol as carbon source and  $\text{NO}_2^-$  as electron acceptor) was the best scenario with an efficiency  $>99\%$ , in batch, and  $95\%$ , in fed-batch. However, denitrification using  $\text{SCN}^-$  as mineral carbon did not show any promising efficiency in fed-batch (progressive decrease in denitrification efficiency with  $\text{NO}_2^-$  and absence of any treatment with  $\text{NO}_3^-$ ). Finally, other scenarios tested in batch and fed-batch gave less promising results, including the Anammox approach. Among evaluated approaches, the use of wood with caries (predigested by fungi) was found the least efficient in denitrification.

(ii) the nitrification-denitrification pilot (with flow) of the real effluent allowed  $\text{SCN}^-$  and  $\text{NO}_3^-$  removal with efficiency higher than  $97\%$  and  $80\%$ , respectively. The methanol as carbon source allowed treating  $>80\%$  of  $\text{NO}_3^-$  at all hydraulic retention time (HRT) tested with maximum efficiency of  $96\%$ . Moreover, the HRT and dilution factors greatly influenced these efficiencies. Based on nitrogen balance, the denitrification by  $\text{SCN}^-$  was barely efficient and the decrease in  $\text{SCN}^-$  and  $\text{NO}_3^-$  concentrations in the pre-denitrification step was mainly a result of the dilution due to effluent recirculation. Results on the treatment pilot system showed promising. Finally, the results of ongoing and coming work will allow optimizing the design criteria of a large-scale treatment system.

## TABLE DES MATIÈRES

DÉDICACE.....	III
REMERCIEMENTS .....	IV
RÉSUMÉ.....	VI
ABSTRACT .....	VIII
TABLE DES MATIÈRES .....	X
LISTE DES TABLEAUX.....	XIII
LISTE DES FIGURES .....	XIV
LISTE DES SIGLES ET ABRÉVIATIONS .....	XVI
LISTE DES ANNEXES .....	XVII
CHAPITRE 1 INTRODUCTION.....	1
1.1 Contexte.....	1
1.2 Objectifs .....	2
1.3 Contenu du mémoire et principale contribution .....	2
1.4 Présentations et publications liées à l'étude .....	3
CHAPITRE 2 REVUE DE LITTÉRATURE .....	5
2.1 Origine de la pollution azotée dans les effluents de mines d'or.....	6
2.1.1 Les $\text{SCN}^-$ .....	7
2.1.2 L'utilisation des explosifs .....	9
2.2 La dénitrification des effluents de mines d'or .....	10
2.2.1 Les technologies physiques de dénitrification.....	10
2.2.2 Les technologies chimiques de dénitrification .....	11
2.2.3 Les technologies biologiques de dénitrification .....	15

2.3 Synthèse des connaissances.....	35
2.4 Besoins en recherche .....	36
2.5 Description du site à l'étude .....	37
CHAPITRE 3 MATÉRIELS ET MÉTHODES.....	39
3.1 Description du site et échantillonnage.....	39
3.2 Essais batch et fed-batch .....	40
3.3 Pilote de nitrification-dénitrification .....	42
3.4 Suivi des essais en batch et fed-batch.....	43
CHAPITRE 4 RÉSULTATS DES ESSAIS BATCH ET FED-BATCH .....	44
4.1 Suivi du pH, POR et OD .....	44
4.2 Suivi des concentrations des $\text{SCN}^-$ , $\text{N-NH}_3$ , $\text{NO}_2^-$ et $\text{NO}_3^-$ .....	47
4.2.1 Mélanges S9 ( $\text{SCN}^- + \text{NO}_2^-$ ) et S10 ( $\text{SCN}^- + \text{NO}_3^-$ ) .....	47
4.2.2 Mélanges S11 ( $\text{N-NH}_3 + \text{NO}_2^-$ ) et S12 ( $\text{N-NH}_3 + \text{NO}_3^-$ ).....	50
4.2.3 Mélanges S1 ( $\text{BP} + \text{NO}_2^-$ ) et S2 ( $\text{BP} + \text{NO}_3^-$ ).....	52
4.2.4 Mélanges S3 ( $\text{BI} + \text{NO}_2^-$ ) et S4 ( $\text{BI} + \text{NO}_3^-$ ) .....	54
4.2.5 Mélanges S5 ( $\text{MeOH} + \text{NO}_2^-$ ) et S6 ( $\text{MeOH} + \text{NO}_3^-$ ) .....	55
4.2.6 Mélanges S7 ( $\text{EtOH} + \text{NO}_2^-$ ) et S8 ( $\text{EtOH} + \text{NO}_3^-$ ).....	57
4.3 Suivi du gaz produit par les mélanges en batch et en fed-batch.....	59
4.4 Stratégie à adopter pour la dénitrification avec écoulement en continu.....	62
CHAPITRE 5 ARTICLE 1 : EFFICIENCY OF NITROGEN REMOVAL DURING THIOCYANATE TREATMENT IN GOLD MINE EFFLUENTS WITH MINERAL AND ORGANIC CARBON SOURCES .....	64
5.1 Résumé .....	65
5.2 Graphical abstract .....	66

5.3 Abstract.....	66
5.4 Introduction .....	67
5.5 Materials and methods.....	69
5.5.1 Site description and sampling.....	69
5.5.2 Pilot-scale system for the nitrification-denitrification process.....	70
5.5.3 Physicochemical characterization .....	73
5.5.4 Data processing .....	74
5.6 Results and discussion.....	74
5.6.1 Pre-Denitrification (reactor A) .....	74
5.6.2 Nitrification (reactors B to D) .....	77
5.6.3 Post-denitrification (reactor E).....	80
5.7 Conclusion.....	81
5.8 Acknowledgements .....	82
5.9 References .....	82
CHAPITRE 6 DISCUSSION DES RÉSULTATS .....	87
6.1 Comparaison des paramètres physicochimiques .....	87
6.2 Comparaison de l'efficacité de dénitrification .....	88
CHAPITRE 7 CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS .....	90
BIBLIOGRAPHIE .....	93

## LISTE DES TABLEAUX

Tableau 2-1 : Exigences au point de rejet de l'effluent final des mines de métaux .....	6
Tableau 2-2: Guide de rejet pour les $\text{CN}^-$ et les $\text{SCN}^-$ .....	8
Tableau 2-3: Principales technologies de traitement physique de la pollution azotée dans les effluents des mines d'or .....	11
Tableau 2-4: Exemples de dénitrification chimique .....	12
Tableau 2-5: Principales technologies de traitement chimique de la pollution azotée ( $\text{N-NH}_3$ , $\text{NO}_2^-$ et $\text{NO}_3^-$ ) dans les effluents des mines d'or .....	13
Tableau 2-6: Comparaison de différentes études utilisant l'approche nitrification-dénitrification	25
Tableau 2-7: Microorganismes dotés d'une activité Anammox .....	30
Tableau 2-8 : Comparaison entre deux traitements Anammox à basse température et à température ambiante .....	32
Tableau 2-9 : Comparaison de différentes études utilisant l'approche Anammox .....	33
Tableau 3-1 : Caractéristiques des mélanges testés dans les essais batch et fed-batch.....	40
Tableau 3-2 : Réactifs et concentrations utilisés pour chaque mélange.....	41
Tableau 4-1 : Volume du gaz produit en fin de l'essai en batch.....	60
Tableau 4-2 : Évolution des efficacités de dénitrification et des volumes de gaz produits pour tous les essais en batch et en fed-batch. ....	62
Table 5-1: Physicochemical composition (in mg/L, except for pH) of the gold mine effluent tested in pilot nitrification-denitrification system .....	71
Table 5-2: Variation of parameters with the HRT and dilution factors during the pilot testing ....	73
Table 5-3: Evolution of pH, ORP, and DO with the dilution factor during the nitrification-denitrification treatment process .....	75

## LISTE DES FIGURES

Figure 2-1: Diagramme schématique de l'extraction de l'or par les cyanures.....	9
Figure 2-2: Schéma des niveaux d'oxydation de l'azote .....	10
Figure 2-3: Schéma du principe de fonctionnement des marais épurateur .....	16
Figure 2-4: Utilisation de l'azote lors de l'assimilation.....	18
Figure 2-5: Résultats du suivi du réacteur de laboratoire de pré-dénitrification à des concentrations élevées en $\text{SCN}^-$ .....	22
Figure 2-6: Cycle microbien de l'azote .....	29
Figure 2-7: Schéma du traitement des étapes de traitement de l'effluent de la mine LaRonde .....	38
Figure 3-1: Schéma de la configuration du système de récupération par dénivellation du gaz produit dans les bioréacteurs.....	41
Figure 3-2: Photo du montage des essais en fed-batch .....	42
Figure 3-3 : Schéma du système pilote de traitement par nitrification-dénitrification .....	43
Figure 4-1: Variation du pH pour les mélanges testés en batch et en fed-batch .....	45
Figure 4-2: Variation du POR en fin de batch et de chaque cycle de fed-batch .....	45
Figure 4-3: Variation de l'OD en fin de batch et de chaque cycle de fed-batch.....	46
Figure 4-4: Variation de la concentration des $\text{SCN}^-$ en batch et en fed-batch pour les mélanges ( $\text{SCN}^- + \text{NO}_2^-$ ) et ( $\text{SCN}^- + \text{NO}_3^-$ ).....	48
Figure 4-5: Variation de la concentration de $\text{N-NH}_3$ en batch et en fed-batch pour les mélanges non alimentés avec le $\text{N-NH}_3$ .....	49
Figure 4-6: Évolution de la concentration des $\text{NO}_2^-$ et des $\text{NO}_3^-$ dans les mélanges S9 et S10 utilisant les $\text{SCN}^-$ comme source d'énergie en batch et en fed-batch .....	50
Figure 4-7: Évolution de la concentration de $\text{N-NH}_3$ dans les mélanges S11 et S12 utilisant le $\text{N-NH}_3$ comme source d'énergie en batch et en fed-batch .....	51

Figure 4-8: Évolution de la concentration des $\text{NO}_2^-$ et des $\text{NO}_3^-$ dans les mélanges S11 et S12 utilisant les $\text{N-NH}_3$ comme source d'énergie en batch et en fed-batch .....	52
Figure 4-9: Évolution de la concentration des $\text{NO}_2^-$ et des $\text{NO}_3^-$ dans les mélanges S1 et S2 utilisant le BP comme source d'énergie en batch et en fed-batch .....	53
Figure 4-10: Évolution de la concentration des $\text{NO}_2^-$ et des $\text{NO}_3^-$ dans les mélanges S3 et S4 utilisant le BI comme source d'énergie en batch et en fed-batch .....	55
Figure 4-11: Évolution de la concentration des $\text{NO}_2^-$ et des $\text{NO}_3^-$ dans les mélanges S5 et S6 utilisant le méthanol comme source d'énergie en batch et en fed-batch .....	56
Figure 4-12: Évolution de la concentration des $\text{NO}_2^-$ et des $\text{NO}_3^-$ dans les mélanges S7 et S8 utilisant l'éthanol comme source d'énergie en batch et en fed-batch .....	58
Figure 4-13 : Evolution des volumes de gaz produits lors des essais fed-batch .....	61
Figure 5-1: Pilot-scale reactors used for the nitrification-denitrification process [pre-denitrification (A), nitrification (B to D), and post-denitrification (E)] .....	72
Figure 5-2: Evolution of chemical parameters during the nitrification-denitrification process in pilot treatment system of gold mine effluent .....	78
Figure 5-3: Balance of sulfur and nitrogen-based compounds for each reactor in the nitrification-denitrification process in pilot treatment system .....	79



## LISTE DES SIGLES ET ABRÉVIATIONS

ANFO: Ammonia Nitrate Fuel Oil

DCO: Demande Chimique en Oxygène

BI : Bois Intact (non prédigéré par les champignons)

BP : Bois Pourri (prédigéré par les champignons)

BRM: BioRéacteur Membranaire

MBBR: Réacteur biofilm à lit fluidisé (Moving Bed Biofilm Reactor)

MVS: Matière Volatile en Suspension

N total: Azote total

OD : Oxygène Dissout

rpm: Rotation Par Minute

RBS: Réacteur Batch Séquentiel (sequential batch reactor)

STR: Réacteur de type cuve agitée (Stirred Tank Reactor)

T: Température

TRH: Temps de Rétention Hydraulique

UASB: Réacteur à lit de boue anaérobie avec flux ascendant (Up-flow Anaerobic Sludge Blanket)

UPBR: Réacteur à lit fixe avec flux ascendant (Upflow Packed Bed Reactor)

$Y_A$ : Rendement de croissance

$\Delta G$ : Énergie libre

## LISTE DES ANNEXES

Annexe A – Protocole de conduite des réacteurs batch fed-batch en vue de détecter puis suivre la cinétique de l'activité dénitrifiante des boues de la mine LaRonde.....	107
Annexe B – Protocole de conduite du réacteur continu (avec écoulement) en vue d'étudier la cinétique de dénitrification biologique sur l'effluent réel d'une mine d'or .....	118
Annexe C – Bilan d'azote des essais en batch et en fed-batch .....	131
Annexe D – Preuve de la soumission de l'article auprès du journal « Process Biochemistry »..	133

## CHAPITRE 1 INTRODUCTION

### 1.1 Contexte

La gestion des effluents miniers et particulièrement des mines d'or constitue un grand défi environnemental pour les entreprises minières et les gouvernements. En effet, ces effluents peuvent présenter un danger pour l'environnement à cause des contaminants qu'ils contiennent, entre autres, les composés azotés. Parmi ces composés azotés majeurs et problématiques se trouvent les  $\text{CN}^-$ , les  $\text{SCN}^-$ , le  $\text{N-NH}_3$ , les  $\text{NO}_2^-$  et les  $\text{NO}_3^-$ . Le  $\text{N-NH}_3$  (toxique) et le  $\text{NO}_3^-$  sont dissouts dans les eaux de ruissellement issues de l'utilisation des explosifs ANFO. Les  $\text{CN}^-$  (très toxiques) et les  $\text{SCN}^-$  (moins toxiques) sont le résultat de la cyanuration des minerais contenant le soufre, à pH alcalin. L'oxydation retardée de cette pollution azotée dans les cours d'eau naturels consomme l'oxygène dissout et asphyxie les eaux. De plus, les  $\text{NO}_3^-$  formés peuvent provoquer à long terme l'eutrophisation des cours d'eau (surtout à faible débit et stagnantes). Plusieurs technologies de traitement de la pollution azotée ont été développées, à savoir des technologies physiques, chimiques et biologiques. Les technologies physiques sont utilisées pour les débits importants et à faible concentration afin de concentrer la pollution azotée. Ils permettent l'obtention d'une eau de très bonne qualité, mais génèrent aussi un concentré qu'il faudra traiter avant déversement. Leurs désavantages majeurs sont les coûts énergétiques associés et l'entretien. Les technologies chimiques sont efficaces pour traiter la plupart de la pollution azotée, mais restent moins efficaces pour traiter les  $\text{SCN}^-$ . Les technologies biologiques présentent une alternative prometteuse pour bien gérer ces effluents. En effet, l'efficacité des bioréacteurs pour traiter la pollution azotée a été validée par plusieurs travaux de recherche. L'approche biologique de nitrification-dénitrification permet d'oxyder la contamination en  $\text{NO}_3^-$  (nitrification), ensuite la transformer en diazote gazeux ( $\text{N}_2$ ), gaz inerte et non dangereux.

Dans ce contexte, la mine LaRonde, propriété d'Agnico Eagle Ltée, se sert d'un traitement chimique (UTE : Usine de Traitement des Eaux) et biologique (UTFE : Usine de Traitement Finale de l'Eau) pour oxyder la pollution azotée en  $\text{NO}_3^-$ . L'effluent final, fortement chargé en  $\text{NO}_3^-$ , respecte les réglementations actuelles (REMM et D019), mais pourrait entraîner à long terme

l'eutrophisation des cours d'eau. La mine LaRonde se propose de trouver une alternative efficace pour améliorer le traitement des composés azotés dans ses effluents.

## 1.2 Objectifs

Dans ce contexte, l'objectif général de la présente étude est d'améliorer l'efficacité de traitement des composés azotés dans les effluents des mines d'or (cas de la mine LaRonde), à savoir les  $\text{SCN}^-$ , le  $\text{N-NH}_3$ , les  $\text{NO}_2^-$  et les  $\text{NO}_3^-$ .

Les objectifs spécifiques en découlant sont les suivants :

- Évaluer l'activité dénitrifiante des boues de la mine LaRonde (essais en batch sur un effluent synthétique) ;
- Choisir un/des scénario(s) de dénitrification efficace(s) (essais en fed-batch sur un effluent synthétique) ;
- Valider le(s) scénario(s) de dénitrification retenu(s) sur l'effluent de la mine LaRonde (système pilote de traitement, avec écoulement) ;
- Proposer la méthode de dénitrification optimale à échelle de laboratoire, selon l'ensemble des résultats des essais réalisés.

## 1.3 Contenu du mémoire et principale contribution

Ce mémoire de maîtrise est divisé en cinq chapitres.

Le premier chapitre est introductif et présente le contexte de l'étude réalisée, les objectifs visés, la structure du présent mémoire et les présentations/publications produits en lien avec les résultats obtenus.

Le deuxième chapitre sera consacré à la revue de littérature où la provenance de la pollution azotée dans les effluents des mines d'or sera présentée. Par la suite, les technologies de traitement (physiques, chimiques, biologiques, physico-chimiques et bio-électrochimiques) de ces composés azotés seront discutées. En fin de ce deuxième chapitre, une synthèse de connaissances disponibles, sera réalisée, suivie d'une présentation des besoins en recherche et de la description du site de l'étude.

Par la suite, le chapitre 3 présentera les démarches adoptées pour la réalisation des essais en batch, en fed-batch et avec écoulement. Le contenu de ce chapitre est appuyé par deux Annexes (A et B) détaillant d'avantage les démarches et les protocoles suivis.

Le chapitre 4 sera consacré aux résultats et aux interprétations des essais en batch et en fed-batch réalisés sur un effluent synthétique. Ces résultats permettront d'évaluer l'activité dénitrifiante des boues de la mine LaRonde et de comparer les efficacités de dénitrification des différents substrats qui seront testés. À la fin de ce chapitre, les meilleurs scénarios de dénitrification seront sélectionnés pour les valider dans la suite des travaux par le billet d'un système pilote de nitrification-dénitrification.

Le chapitre 5 sera présenté sous la forme d'un article scientifique, soumis pour une publication potentielle dans la revue *Process Biochemistry*, et visera les résultats des essais avec écoulement réalisés avec un système pilote de laboratoire de nitrification-dénitrification sur un effluent réel.

Le chapitre 6 présentera une discussion et une comparaison des résultats en batch et fed-batch avec ceux des essais avec écoulement. Cette comparaison permettra d'intégrer l'ensemble des essais réalisés et faire ressortir les résultats les plus prometteurs obtenus dans le travail réalisé.

Enfin, le dernier chapitre, de conclusions et recommandations, fera un retour sur l'atteinte des objectifs spécifiques de l'étude et propose les pistes potentielles pour la suite des travaux.

## **1.4 Présentations et publications liées à l'étude**

Au courant de la réalisation du projet de maîtrise, plusieurs occasions se sont offertes pour mettre en valeur les travaux réalisés.

### **Présentations orales :**

- Tanabene R., Neculita C. M., Genty T., Bussière B., Potvin R., 2016. Résumé des travaux réalisés et des résultats obtenus. Colloque annuel de l'IRME-POLY, École Polytechnique de Montréal, 17 mai 2016.
- Tanabene R., Neculita C. M., Genty T., Bussière B., Potvin R., 2016. Développement d'une approche biologique de dénitrification des effluents des mines d'or à l'échelle de laboratoire. Séminaire Enviro-Mine, UQAT, 24 mars 2016.

- Tanabene R., Neculita C. M., Genty T., Bussière B., Potvin R., 2015. Développement d'une approche biologique de dénitrification des effluents des mines d'or à l'échelle de laboratoire. Séminaire IRME-AEM (Mines Agnico Eagle)-CM (Mine Canadian Malartic), Mine Candian Malartic, 7 octobre 2015.

**Poster :**

- Tanabene R., Genty T., Bussière B., Potvin R., Gonzalez-Merchan C., Neculita C. M., 2016. Développement d'une approche biologique de dénitrification des effluents des mines d'or à l'échelle de laboratoire. Colloque annuel de l'IRME-POLY, Ecole Polytechnique de Montréal, 17 mai 2016.

**Article de revue :**

- Tanabene R., Genty T., Gonzalez-Merchan C., Bussière B., Potvin R., Neculita C. M., 2016. Efficiency of nitrogen removal during thiocyanate treatment in gold mine effluents with mineral and organic carbon sources. *Process Biochemistry* (soumis le 11 octobre 2016).

## CHAPITRE 2 REVUE DE LITTÉRATURE

Les effluents des mines d'or sont à l'origine de plusieurs contaminants, dont la pollution azotée. L'azote dans les effluents des mines d'or provient de diverses sources, qui sont notamment l'utilisation des explosifs lors des étapes d'exploitation des gisements et l'ajout des cyanures (CN<sup>-</sup>) aux minerais broyés en vue de la séparation des métaux précieux comme l'or et l'argent (Koren et al., 2000 ; Zaitsev et al., 2008). Les composés azotés ainsi retrouvés dans les effluents des mines d'or doivent être traités afin d'éviter les risques environnementaux qui en résulte telles que la toxicité aquatique et l'eutrophisation des eaux des lacs ou la contamination des organismes aquatiques (Kim et al., 2011). Pour contourner le problème de la pollution azotée dans les effluents des mines d'or, plusieurs technologies ont été développées lesquelles peuvent être classées en physiques, chimiques et biologiques. Il se trouve aussi que le recours à la combinaison de divers technologies ensembles permet d'améliorer l'efficacité du traitement (ex. traitement physico-chimique, traitement bio-électrochimique ; Jermakka et al., 2015).

Dans cette revue de littérature, les technologies disponibles et en développement, pour le traitement de la pollution azotée par dénitrification dans les effluents des mines d'or principalement, seront présentées et discutées. Les technologies physiques sont plutôt des méthodes de concentration et non pas de traitement. Leur avantage majeur est de permettre la production d'une eau de très bonne qualité, mais à un coût énergétique élevé. Quant aux technologies de traitement chimique, elles sont recommandées pour le traitement des effluents fortement chargés en composés azotés et présentent l'avantage d'une cinétique rapide, surtout en comparaison avec les technologies biologiques. Par ailleurs, les coûts des réactifs et des catalyseurs nécessaires pour ce type de traitement représentent une charge économique que les industries cherchent à réduire et/ou à éviter. Pour les technologies biologiques, elles sont aussi connues pour leur efficacité de traitement des effluents des mines d'or par dénitrification. Toutefois, ces technologies ne sont pas applicables pour de fortes concentrations en contaminants. De plus, la cinétique bactérienne est très influencée par les variations des paramètres physicochimiques de l'effluent (ex. pH, température, concentration en ions), ce qui exige un coût supplémentaire pour mieux contrôler ces paramètres. À la fin, ce chapitre servira comme repère pour le choix des meilleures technologies

potentiellement applicables à pleine échelle pour réaliser une dénitrification des effluents des mines d'or.

## 2.1 Origine de la pollution azotée dans les effluents de mines d'or

Les mines d'or représentent l'une des industries minières les plus hautement positionnées à travers le Canada et le monde entier. Ces mines produisent des débits importants d'effluents contaminés nécessitant un traitement avant rejet dans les milieux récepteurs. En effet, pour obtenir 1 tonne d'or, 200 000 tonnes de rejets (solide et liquide) sont produits (MIN3313, 2008). Plusieurs études se sont concentrées sur les principaux contaminants retrouvés dans les effluents de mines d'or, ainsi que sur les méthodes appropriées pour leur traitement (Ruiz et al., 2006 ; Koeve et Kähler, 2010 ; Madaeni et Koocheki, 2010 ; Kim et al., 2011 ; Duca et Koper, 2012). En réalisant une identification et une évaluation de la toxicité d'un rejet de mine d'or, il a été trouvé que les contaminants possibles dans cet effluent sont le  $\text{N-NH}_3$ , les  $\text{NO}_2^-$ , les  $\text{CN}^-$ , les  $\text{SCN}^-$ , les cyanates ( $\text{OCN}^-$ ), le carbone organique dissout (COD), l'As, le Cu, le Zn, le Ni et les solides en suspension (Whitlock et al., 2003 ; REMM, 2015). Il est bien sûr nécessaire de noter que ces composés sont toxiques pour les êtres vivants à partir d'une concentration limite dans l'effluent et que le traitement vise à les ramener aux limites fixées par les réglementations (Tableau 2-1 ; D019, 2012 ; REMM, 2015).

Tableau 2-1 : Exigences au point de rejet de l'effluent final des mines de métaux (tiré de D019, 2012 ; REMM, 2015)

Substance nocive	Concentration limite régie par le REMM (mg/L)*	Concentration limite régie par la D019 (mg/L)*
Arsenic (As)	0,50	0,20
Cuivre (Cu)	0,30	0,30
Cyanures (CN)	1,00	1,00
Nickel (Ni)	0,50	0,50
Zinc (Zn)	0,50	0,50
Matières en suspension	15	15

\* : Concentration moyenne mensuelle maximale permise

La pollution azotée dans les effluents de mines d'or est d'origine chimique (les  $\text{CN}^-$  et dérivés, à savoir les  $\text{SCN}^-$ , et l'utilisation des explosifs durant l'exploitation des gisements) ou biologique



(les boues d'épuration dans les processus de traitement de ces effluents sont aussi une des sources de la pollution azotée) (Frandsen et al., 2009). Plus de détails sur l'origine de cette pollution azotée et des technologies disponibles pour son traitement seront détaillés dans cette revue de littérature.

### 2.1.1 Les $\text{SCN}^-$

Les  $\text{SCN}^-$  sont le produit de la réaction des  $\text{CN}^-$  avec le soufre (S), lorsque présent dans les gisements. Ils peuvent aussi se trouver sous la forme thiofulminate ( $\text{CNS}^-$ ) qui est un isomère. La forme acide équivalente est l'acide thiocyanique ( $\text{HSCN}$ ) et le couple  $\text{HSCN}/\text{SCN}^-$  a un pKa (constante d'acidité d'un équilibre acido-basique entre un acide et sa base conjuguée) de 0,8. Ainsi, à pH supérieur à 0,8, la forme  $\text{SCN}^-$  domine. Ils peuvent aussi se trouver sous la forme de sels, tel que le thiocyanate de potassium ( $\text{KSCN}$ ) ou plus rarement en thiocyanate de sodium ( $\text{NaSCN}$ ) (Gould et al., 2012). L'ion  $\text{SCN}^-$  a un comportement similaire à l'ion  $\text{CN}^-$ . Il est classé chimiquement dans la catégorie des pseudohalogènes et il a les mêmes propriétés que les chlorures, les bromures et les iodures. Mise à part les sels déjà mentionnés, les  $\text{SCN}^-$  peuvent former aussi des sels ioniques insolubles avec l'argent, le mercure et le zinc. Ils peuvent aussi être dégradés chimiquement ou biologiquement en produits métaboliques tels que le  $\text{N-NH}_3$ , les  $\text{CO}_3^{2-}$  et les  $\text{SO}_4^{2-}$  (Paruchuri et al., 1990).

#### 2.1.1.1 Source des $\text{SCN}^-$ et leur toxicité

Les  $\text{SCN}^-$  sont produits naturellement par détoxification non-fonctionnelle des  $\text{CN}^-$  ingérés par les microorganismes ou bien produits comme moyen de défense contre des infections microbiennes. Dans ce sens, les *Thiobacillus* ont la capacité de catalyser la réaction entre le  $\text{CN}^-$  et le thiosulfate ( $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ ) via l'enzyme *rhodanere*, pour produire le sulfite ( $\text{SO}_3^{2-}$ ) et les  $\text{SCN}^-$  (Équation 2-1). Les  $\text{SCN}^-$  sont aussi produits par divers processus industriels tels que la cokéfaction des activités minières de charbon et d'or dû à la non sélectivité des  $\text{CN}^-$  (Ramirez et al., 2002).



La toxicité des  $\text{SCN}^-$  est un sujet à débat auprès des chercheurs. Plusieurs recherches ont montré que les  $\text{SCN}^-$  sont plus ou moins dangereux. Cependant, les  $\text{SCN}^-$  servaient avant à des fins thérapeutiques dans le traitement de l'hypertension chez l'homme. Des doses chroniques de  $\text{SCN}^-$  peuvent causer des étourdissements, des éruptions cutanées et des nausées (Kumaran et

Shivaraman, 1986). D'autre part, il a été montré que chez les mammifères et les poissons, les  $\text{SCN}^-$  sont transformés en  $\text{CN}^-$ , qui sont plus toxiques et plus dangereux pour l'environnement que les  $\text{SCN}^-$  (Boxer et Rickards, 1952 ; Pines et Crymble, 1952). Entre autres, la toxicité des  $\text{SCN}^-$  est due donc à la toxicité des  $\text{CN}^-$  suite à l'activité métabolique des organismes vivants. L'Association Américaine de la santé publique (APHA, 2012) indique que les  $\text{SCN}^-$  ne sont pas très toxiques. Ce n'est qu'en cas de traitement par chloration alcaline que la génération de chlorure de cyanogène ( $\text{ClCN}$ ) posera un problème de toxicité élevée. Il est à noter aussi que jusqu'aux années 2000, le Ministère de l'Environnement et de la Faune du Québec n'a pas inclus les  $\text{SCN}^-$  dans les critères de la politique de protection des sols et de la réhabilitation des terrains contaminés. Le Tableau 2-2 résume les données sur la limitation de la concentration des  $\text{SCN}^-$  et des cyanures dans les effluents.

Tableau 2-2: Guide de rejet pour les  $\text{CN}^-$  et les  $\text{SCN}^-$

Matrice	Valeur de référence	Référence
Décharge	< 150 mg/L $\text{SCN}^-$ $\text{CN}^-$ libre : 0,2 mg/L	Ministère de l'Environnement (1985)
	$\text{SCN}^-$ : Cas par cas $\text{CN}^-$ totaux : 0,05 mg/L	New South Wales Clean Waters Regulations (1972)

### 2.1.1.2 Les $\text{SCN}^-$ dans les mines d'or

Comme mentionné précédemment, les  $\text{SCN}^-$  sont l'un des sous-produits indésirables retrouvés dans les effluents des mines d'or. En effet, le processus d'extraction de ce métal précieux le plus utilisé est le traitement par les  $\text{CN}^-$  ou aussi appelé cyanuration (Figure 2-1). La solution de cyanure, en contact avec la roche broyée, solubilise l'or et l'argent s'y trouvant même à de très faibles proportions (71 mg d'or/tonne de minerai) (Mudder et al., 2001). Par ailleurs, la principale limite de cette méthode réside dans la non-sélectivité des ions cyanure. En effet, les cyanures solubilisent en plus des métaux Cu, Zn et Fe qui se trouvent dans la roche broyée, le soufre formant ainsi le complexe S-CN, qui est le thiocyanate (Whitlock et al., 2003). Pour le traitement des cyanures, plusieurs technologies sont disponibles permettant leur oxydation chimique (Lotter, 2006). Le défi se trouve plutôt avec les  $\text{SCN}^-$  dont le traitement pose plusieurs problèmes (ex. oxydation en  $\text{N-NH}_3$  toxique ; Acheampong et al., 2009 ; Gould et al., 2012). Les technologies de traitement des  $\text{SCN}^-$  seront discutées plus tard.

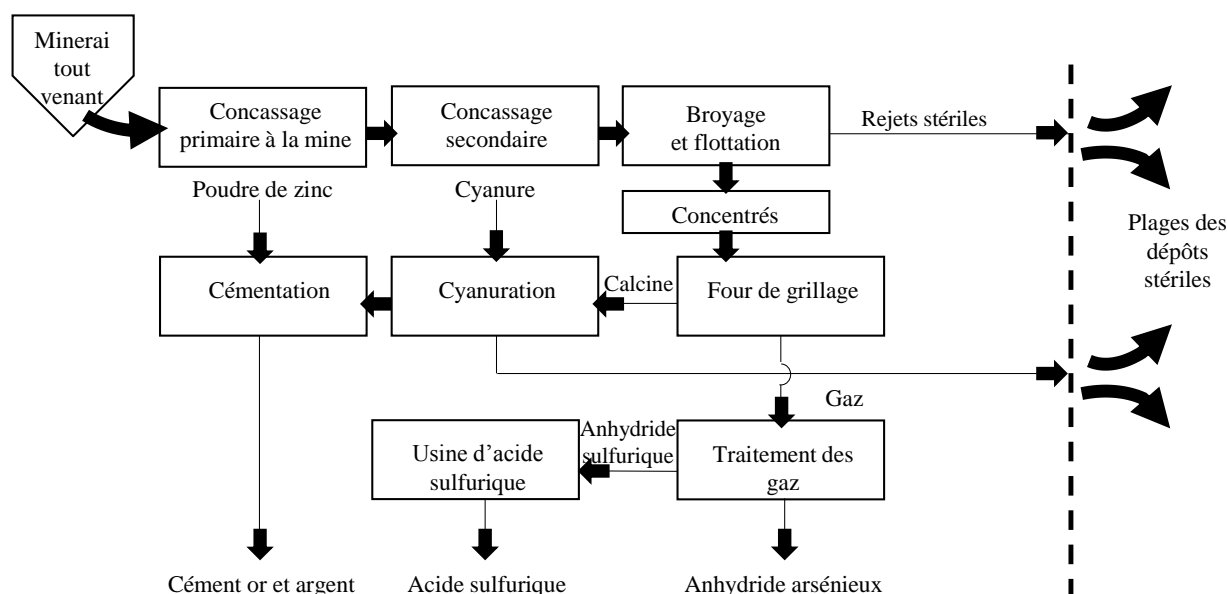


Figure 2-1: Diagramme schématisique de l'extraction de l'or par les cyanures

(adapté de Michel, 1985)

## 2.1.2 L'utilisation des explosifs

Le  $\text{N-NH}_3$  présent dans les effluents de mines d'or peut aussi provenir de l'utilisation d'explosifs à base de nitrate d'ammonium connus par les industriels sous ANFO (Ammonium Nitrate Fuel Oil). En effet, une partie des explosifs reste non détonnée et sera dissoute directement dans les eaux de ruissellement. Une autre partie sera transportée avec les roches extraites du gisement et se dissoudra dans les eaux du procédé de broyage et d'extraction. Les effluents, dans la plupart des cas, seront fortement chargés en  $\text{N-NH}_3$  et nécessiteront un traitement avec leur déversement dans les milieux aquatiques (Forsberg et Akerlund, 1999 ; Karkman et al., 2011).

Les méthodes de traitement des effluents miniers chargés en  $\text{SCN}^-$  et en  $\text{N-NH}_3$  sont diverses. La dénitrification en vue de l'enlèvement de la pollution azotée ( $\text{SCN}^-$ ,  $\text{N-NH}_3$ ,  $\text{NO}_2^-$  et  $\text{NO}_3^-$ ) est une des méthodes prometteuses pour aboutir à cet objectif. En effet, plusieurs technologies de dénitrification ont été développées à échelle de laboratoire et à échelle industrielle et ont montré de bonnes efficacités. Ces technologies seront discutées dans la partie suivante.

## 2.2 La dénitrification des effluents de mines d'or

Tel que mentionné précédemment, la dénitrification consiste à ramener le N dans l'effluent à l'état d'oxydation zéro, qui correspond au  $N_2$  (Figure 2-2) en utilisant des technologies physiques, chimiques et biologiques. La partie suivante détaillera les avantages et les désavantages de ces technologies afin d'en déduire la meilleure technologie de dénitrification à adopter pour cette étude.

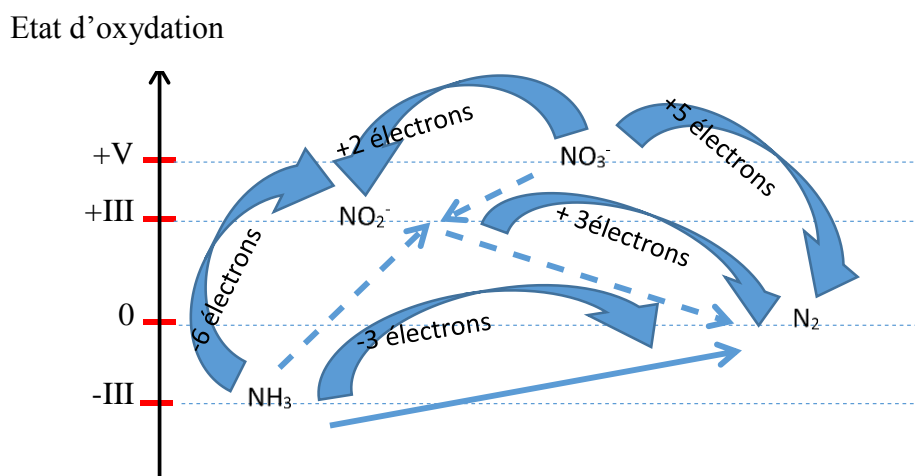


Figure 2-2: Schéma des niveaux d'oxydation de l'azote

### 2.2.1 Les technologies physiques de dénitrification

Les technologies physiques de traitement des effluents miniers (Tableau 2-3) servent pour la séparation et la concentration de la pollution azotée. Il faut par la suite trouver un moyen pour traiter le concentré obtenu. Généralement, ces technologies sont utilisées pour des débits importants et à une faible concentration en contaminants tel le cas des mines d'or qui utilisent des volumes d'eau très importants (Hayrynen et al., 2008). L'osmose inverse et la nanofiltration sont deux technologies membranaires efficaces à petite échelle qui génèrent une eau de très haute qualité, mais, en contrepartie, très énergivores pour les grands débits et nécessitent beaucoup d'entretien. La filtration membranaire est l'une des technologies avantageuses puisqu'elle permet d'enlever plusieurs contaminants à la fois, outre les composés azotés (Shrimali et Singh, 2001). De plus, l'air-stripping est la technologie physique la plus adoptée par les industries minières. Elle consiste en un barbotage de l'air dans l'effluent à traiter à pH alcalin ( $pH > 10,5$  pour un enlèvement de

N-NH<sub>3</sub> >95%). La limite de cette technologie est sa faible efficacité pour les débits importants à faible charge en N-NH<sub>3</sub>, contrairement aux autres technologies physiques (Jermakka et al., 2015). Chacune de ses technologies a ses avantages et ses inconvénients. Le choix d'une technologie particulière dépend des objectifs à atteindre (les réglementations) et du budget alloué pour le traitement.

Tableau 2-3: Principales technologies de traitement physique de la pollution azotée dans les effluents des mines d'or (adapté de Jermakka et al., 2015)

Technologie de traitement	Caractéristiques générales	Avantages	Désavantages	Efficacité
Air-stripping (pour N-NH <sub>3</sub> )	- Barbotage à l'air à pH alcalin (>10,5)	- Simple - Faible coût - Possibilité de combiner avec d'autres technologies de traitement	- Contrôle crucial du pH et de la température - Haute pression requise - Très affectée par la température	Faible
Filtration membranaires	- Osmose inverse - Nano-filtration	- Génération d'une eau de très haute qualité - Module compact - Idéale pour le traitement en continu	- Contrôle crucial du pH et de la température - Coûts de maintenance - Prétraitement de l'effluent - Très coûteux pour de gros volumes	Bonne

### 2.2.2 Les technologies chimiques de dénitrification

Les technologies chimiques sont généralement envisagées par les mines qui font face à de fortes concentrations en composés azotés dans leurs effluents (ex. SCN<sup>-</sup>, N-NH<sub>3</sub>). Ces technologies sont souvent rapides et pas trop affectées par les variations de pH, des ions en solution, de la température et de la présence potentielle de composés toxiques. Leur désavantage majeur réside dans les coûts souvent élevés des agents chimiques et des catalyseurs qui sont toujours requis dans ce type de traitement (Jermakka et al., 2015). D'autres technologies de traitement impliquant le traitement chimique donnent de bons résultats d'enlèvement de l'azote dans les effluents contaminés (ex. traitement électrochimique et géochimique) (Mook et al., 2012 ; Jermakka et al., 2015).

Le traitement chimique se base sur l'utilisation d'un oxydant puissant pour oxyder le N-NH<sub>3</sub> ou les SCN<sup>-</sup> présents dans l'effluent pour donner les NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, les NO<sub>3</sub><sup>-</sup> et les N<sub>2</sub>. Parmi ces oxydants se trouvent l'acide hypochloreux (HOCl) et le dichlore (Cl<sub>2</sub>). Les réactions en question sont développées au Tableau 2-4. Le traitement électrochimique repose sur la réduction des NO<sub>3</sub><sup>-</sup> en NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, ensuite en N<sub>2</sub> sur la surface d'une électrode cathodique. Plusieurs paramètres sont à maîtriser dans ce cas, tels le pH, la conductivité, la concentration en chlorure de sodium, ainsi que la concentration initiale en N-NH<sub>3</sub> ou en NO<sub>3</sub><sup>-</sup>. Cette technologie a été efficace à l'échelle laboratoire mais fait face à la contrainte d'extrapolation à l'échelle industrielle en terme de coûts et d'efficacité (Gould et al., 2012).

Tableau 2-4: Exemples de dénitrification chimique (Adapté de Jermakka et al., 2015)

Oxydation indirecte du N-NH <sub>3</sub> par HOCl	$2 \text{Cl}^- \rightarrow 2 \text{e}^- + \text{Cl}_2$
	$\text{Cl}_2 + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{HOCl} + \text{Cl}^- + \text{H}^+$
	$\text{HOCl} + \frac{2}{3} \text{NH}_3 \rightarrow \frac{1}{3} \text{N}_2 + \text{H}_2\text{O} + \frac{1}{2} \text{Cl}_2$
Oxydation indirecte du N-NH <sub>3</sub> par Cl <sub>2</sub>	$2 \text{Cl}^- \rightarrow 2 \text{e}^- + \text{Cl}_2$
	$3 \text{Cl}_2 + \text{NH}_4^+ \rightarrow \text{NCl}_3 + 3 \text{Cl}^- + 4 \text{H}^+$
	$2 \text{NCl}_3 + 6 \text{OH}^- \rightarrow \text{N}_2 + 3 \text{OCl}^- + 3 \text{Cl}^- + 3 \text{H}_2\text{O}$

En ce qui concerne le traitement géochimique, le principe de cette technologie repose sur la capacité de certains supports à fixer les ions en solution : c'est la capacité de sorption et la capacité d'échange ionique (CEC). Ce n'est pas un traitement en soi, mais plutôt un transfert de contaminant d'une phase à une autre. À titre d'exemple, les zéolites naturelles (ex. clinoptilolite) possèdent une très haute sélectivité de sorption vis-à-vis de l'ion NH<sub>4</sub><sup>+</sup> (5,7 à 11,5 mg NH<sub>4</sub><sup>+</sup>/g ; Jermakka et al., 2015). Cette technologie varie largement selon la minéralogie de la zéolite utilisée, sa complexité, sa porosité, sa densité, le pH de la solution et sa composition ionique. D'autres méthodes aussi sont efficaces mais présentent la limite de ne pas être jusqu'à présent validées à pleine échelle comme les systèmes bio-électrochimiques, la réduction l'électrocoagulation, l'air-stripping assisté électro-chimiquement et la réduction chimique utilisant un métal zéro-valent (Jermakka et al., 2015). Le Tableau 2-5 résume le principe, les avantages et les limites des principales technologies chimiques utilisées en vue du traitement de la pollution azotée de ces méthodes de traitement.

Tableau 2-5: Principales technologies de traitement chimique de la pollution azotée ( $\text{N-NH}_3$ ,  $\text{NO}_2^-$  et  $\text{NO}_3^-$ ) dans les effluents des mines d'or (adapté de Jermakka et al., 2015)

Technologies de traitement	Caractéristiques générales	Avantages	Désavantages	Efficacité
Réduction chimique par un métal zéro-valent	Réduction chimique des $\text{NO}_2^-$ en $\text{N}_2$ par un métal tel que $\text{Fe}^0$ , $\text{Mg}^0$ , ou $\text{Al}^0$	- Coût modéré de l'installation	- Très affectée par le pH - N'agit pas sur les espèces réduites de l'azote (ex. $\text{N-NH}_3$ )	Faible
Oxydation/réduction électrochimique	Oxydation/réduction pour enlever la matière organique et les composés azotés sous forme de $\text{N}_2$	- Opération facile - Pas besoin d'une supplémentation en carbone	- Ne traite que les fortes concentrations en N avec grande supplémentation en $\text{Cl}^-$ requise - Production de $\text{Cl}_2$ - Échelle laboratoire uniquement - Très énergivore - Affectée par la présence de $\text{Mg}^{2+}$ , $\text{Ca}^{2+}$ et $\text{SO}_4^{2-}$	Efficace si appliquée sur un effluent à forte concentration en N sans présence d'autres ions
Systèmes bio-électrochimiques	Les électrodes sont utilisées comme donneurs et accepteurs d'électrons pour les bactéries	- Production d'énergie	- Échelle laboratoire uniquement - Très sensible au pH et à la variation de la température	Faible
Électrocoagulation	Coagulation des anions via les cations issus de la dissolution d'une électrode en solution	- Faible production de boue	- Forte consommation de métal	Faible
Air-stripping assisté électrochimiquement	Control électrochimique du pH et de la concentration du $\text{N-NH}_3$ sur la surface d'électrode	- Moins d'énergie requise que celle pour l'oxydation électrique - Régénération du $\text{N-NH}_3$	- Échelle laboratoire uniquement	Bonne (pas encore bien développée)

Tableau 2-5 : Principales technologies de traitement chimique de la pollution azotée ( $\text{N-NH}_3$ ,  $\text{NO}_2^-$  et  $\text{NO}_3^-$ ) dans les effluents des mines d'or (adapté de Jermakka et al., 2015) (suite)

Technologies de traitement	Caractéristiques générales	Avantages	Désavantages	Efficacité
Sorption géochimique sur zéolite	Sorption sur une surface ionique ou par échange ionique (pour $\text{N-NH}_3$ )	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Faible coût</li> <li>- Forte Capacité d'échange ionique</li> <li>- Forte capacité de sorption</li> <li>- Possibilité de la combiner avec d'autres technologies de traitement</li> <li>- Disponible (naturelle et synthétique)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Prétraitement chimique ou physique requis</li> <li>- Capacité de sorption dépend de la minéralogie de la zéolite utilisée, du pH, des ions en solutions, de la porosité et la taille des particules</li> </ul>	Bonne
Sorption sur un support en carbone	Sorption sur une surface ionique ou par échange ionique	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Coût faible à modéré</li> <li>- Possibilité de la combiner avec d'autres technologies de traitement</li> <li>- Disponibilité commerciale (activé)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Pré-activation peut être requise</li> </ul>	Bonne
Sorption sur un support minéral	Sorption sur une surface ionique ou par échange ionique	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Faible coût</li> <li>- Sous-produit à valeur ajoutée</li> <li>- Possibilité de la combiner avec d'autres technologies de traitement</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Relargage possible de métaux et/ou de métalloïdes</li> <li>- Composition très variable</li> </ul>	Moyenne



### 2.2.3 Les technologies biologiques de dénitrification

La dénitrification biologique est basée sur des processus biologiques assurés par les microorganismes afin de réaliser le traitement envisagé. Comme toute technologie, l'approche biologique présente des avantages et des limites. Généralement, cette alternative est utilisée suite à un traitement chimique afin de minimiser les coûts de traitement.

Les technologies biologiques de traitement des effluents des mines d'or contenant la pollution azotée peuvent être classées en deux grandes catégories : les méthodes passives et les méthodes actives de dénitrification. Les deux parties suivantes présenteront plus en détail ces deux catégories.

#### 2.2.3.1 Dénitrification passive

La dénitrification passive est principalement le recours aux marais épurateurs. L'efficacité de ces systèmes pour enlever le N des effluents contaminés des mines a été démontrée par plusieurs recherches (Alvez-Rogel et al., 2006 ; Scott et al., 2008 ; Hefting et al., 2012). L'enlèvement de la pollution azotée des effluents miniers repose sur divers mécanismes à savoir la volatilisation, la nitrification-dénitrification, l'accumulation dans les plantes et la sédimentation (Reddy et De Laune, 2008), mais la nitrification-dénitrification est considérée comme le principal mécanisme de traitement (Vymazal, 2007). La nitrification (oxydation du  $\text{N-NH}_3$  en  $\text{NO}_3^-$ ) est assurée par des bactéries strictement aérobies (*Nitrobacter spp.* et *Nitrosomonas*), qui nécessitent la présence d'Oxygène Dissout (OD) dans le milieu en concentration suffisante. Pour cela, la nitrification dans les marais se déroule près de la surface libre où la concentration en oxygène est optimale pour les bactéries (Figure 2-3) avec des efficacités  $>97\%$  (en termes d'enlèvement de  $\text{N-NH}_3$ ). La dénitrification ( $\text{NO}_3^- \rightarrow \text{N}_2$ ) se déroule dans des profondeurs plus importantes où les concentrations en  $\text{O}_2$  demeurent très faibles (anoxie à anaérobiose) favorisant ainsi un milieu réducteur. Les bactéries responsables de cette étape sont hétérotrophes et nécessitent donc une source de carbone organique dans le milieu. Cette approche présente l'avantage d'être efficace même dans les conditions nordiques comme le climat du Canada, mais les cinétiques sont lentes (Jermakka et al., 2015). En effet, cette technologie reste influencée par la température ; plus la température augmente, plus la cinétique des deux réactions (nitrification et dénitrification) s'améliore.

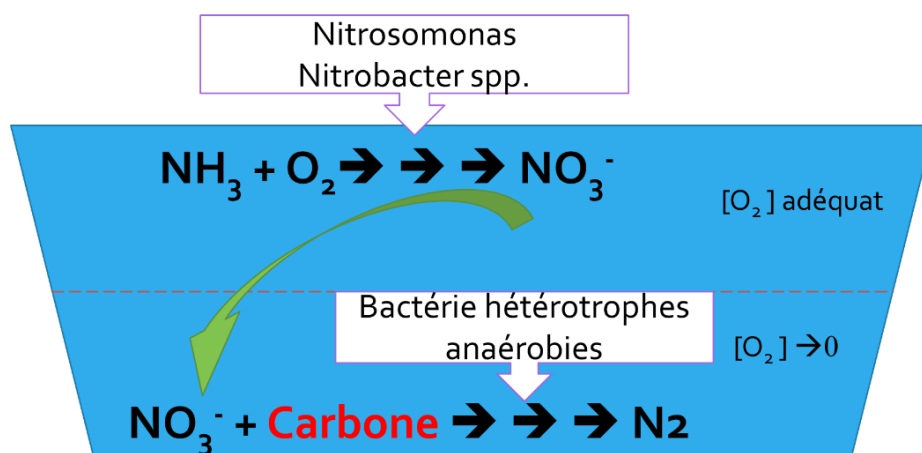


Figure 2-3: Schéma du principe de fonctionnement des marais épurateurs

Certains travaux ont montré que la nitrification décline rapidement pour des températures inférieures à 10°C et s'arrête complètement si la température descend en bas de 6°C. Quant à la dénitrification, elle se poursuit à des températures avoisinant les 5°C (Tchobanoglous et al., 2003).

### 2.2.3.2 Dénitrification active

#### 2.2.3.2.1 Traitement par nitrification-dénitrification

Les technologies se basant sur la nitrification suivie par la dénitrification (même principe que les marais épurateurs) pour le traitement de la pollution azotée reposent sur l'oxydation de N-NH<sub>3</sub> en NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, ensuite en NO<sub>3</sub><sup>-</sup> (la nitrification). Par la suite, la réduction des NO<sub>3</sub><sup>-</sup> produits via la dénitrification donnera le N<sub>2</sub>. Ces étapes sont développées dans les paragraphes suivants.

#### Nitrification

La nitrification consiste en l'oxydation biologique (via des bactéries) du N-NH<sub>3</sub> en NO<sub>3</sub><sup>-</sup>. Cette transformation est réalisée en deux étapes : la nitritation (N-NH<sub>3</sub> → NO<sub>2</sub><sup>-</sup>), suivie de la nitratation (NO<sub>2</sub><sup>-</sup> → NO<sub>3</sub><sup>-</sup>). Elle est effectuée en présence d'oxygène par des bactéries autotrophes qui utilisent le N-NH<sub>3</sub> comme source d'énergie en conditions alcalines. Les microorganismes impliquées sont des autotrophes nitrifiantes du genre *Nitrosomonas* spp. et *Nitrobacter* spp. (Koops et al., 1991 ; Painter 1986). D'autres bactéries comme les *Nitrosospira* peuvent également être impliquées dans la nitritation (Zaitsev et al., 2008). La nitrification est très affectée par la température (Chen et al., 2006) et l'efficacité de la nitrification double par une augmentation de 10°C (Tchobanoglous et al.,

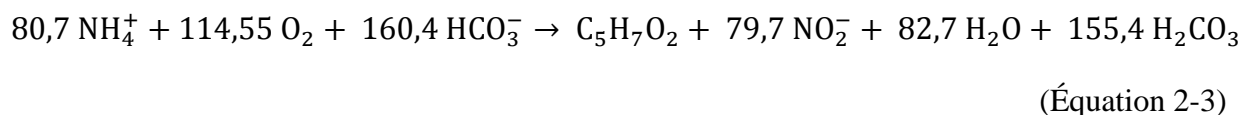
2003). Les réactions biochimiques de la nitrification sont présentées ci-dessous par les deux étapes de nitritation et de nitratisation (Équation 2-2 à 2-5 ; Lay-Son et Drakies, 2008 ; Wang et al., 2008 ; Zaitsev et al., 2008 ; Alvarez et al., 2013).

- La nitritation

Il s'agit de l'oxydation du N-NH<sub>3</sub> en azote nitreux (NO<sub>2</sub><sup>-</sup>) par des bactéries autotrophes du genre *Nitrosomonas*, *Nitrosococcus* ou *Nitrospira* (Équation 2-2). L'énergie libre de cette réaction est ΔG= -290.4 KJ mol<sup>-1</sup> N<sup>-1</sup>.

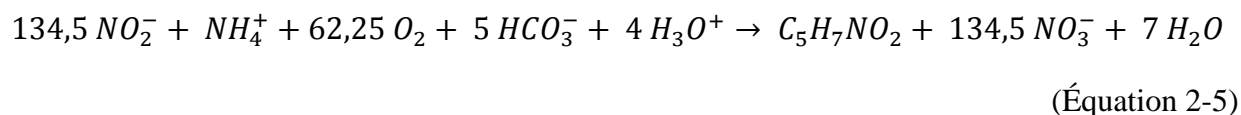


Le métabolisme des bactéries nitritantes effectuant la réaction se déroule conformément à l'Équation 2-3. Cette réaction s'accompagne par une production théorique de biomasse nitritante de 0,1g MVS/g N-NH<sub>3</sub>, soit 0,14 g DCO/g N-NH<sub>3</sub>, ainsi qu'une diminution de l'alcalinité du milieu de culture, d'où la nécessité d'un contrôle judicieux du pH et de l'alcalinité (Tchobanoglous et al., 2003).



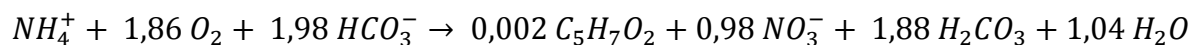
- La nitratisation

Les bactéries du genre *Nitrobacter* oxydent les NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, formés lors de l'étape de nitritation, en NO<sub>3</sub><sup>-</sup> (ΔG= -72.1 KJ (mol N)<sup>-1</sup>). La réaction chimique en question est présentée par l'Équation 2-4. Celle-ci est accompagnée par une production théorique de biomasse nitratante de 0,06 g MVS/g N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup> ou 0,085 g DCO/g N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup> (Équation 2-5).



- Bilan de la nitrification

L'Équation 2-6 décrit la stœchiométrie de la nitrification selon Henze et al. (1995).



(Équation 2-6)

Le rendement de croissance de cette réaction ( $Y_A = 0,24$  g DCO/g N, soit 0,17 g MVS<sub>produit</sub>/g N) est faible comparant à l'assimilation de l'énergie ( $1-Y_A$ ) (Figure 2-4), raison pour laquelle la majeure partie du N-NH<sub>3</sub> dégradé durant la nitrification se trouve sous forme de NO<sub>3</sub><sup>-</sup> et non pas de biomasse (Spanjers et al., 1996).

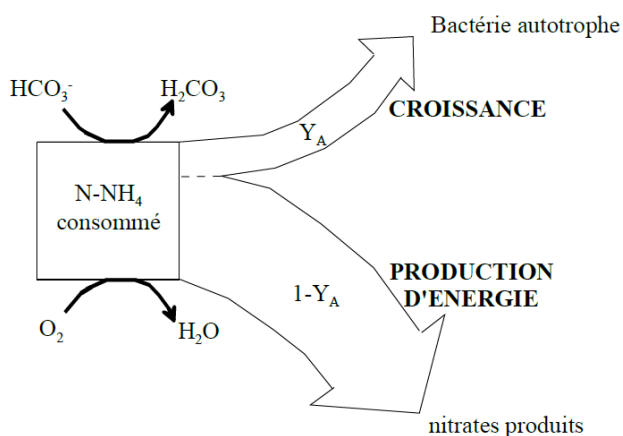
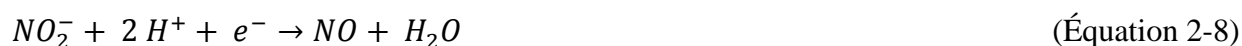


Figure 2-4: Utilisation de l'azote lors de l'assimilation (Spanjers et al., 1996)

### Dénitrification

La dénitrification consiste en une réduction des NO<sub>3</sub><sup>-</sup> en N<sub>2</sub> par des bactéries hétérotrophes du genre *Pseudomonas* en absence d'oxygène dissous (Pelmont, 1993). Par ailleurs, la dénitrification aérobie est un processus qui a été démontré par plusieurs études. En effet, selon Marin et al. (2016), ce processus de dénitrification aérobie peut subvenir en cas de présence de bactéries dénitrifiantes de l'espèce *Gammaproteobacteria*. D'autres études plus anciennes ont montré que des bactéries du genre *Citrobacter diversus* (Huang et Tseng, 2001) et plusieurs autres bactéries appartenant au genre *Pseudomonas* (Miyahara et al., 2010 ; Ji et al., 2015) étaient dotées d'une activité dénitrifiante aérobie dans des conditions de faibles concentrations de N<sub>2</sub>O, un sous-produit de la réaction de dénitrification connu pour son effet de serre. Une autre bactérie, *Microvirgula aerodenitrificans*, a été isolée lors de travaux sur la dénitrification biologique aérobie et a été montrée capable de produire du N<sub>2</sub> à partir du N<sub>2</sub>O ou du NO<sub>3</sub><sup>-</sup> par Patureau et al. (1998).

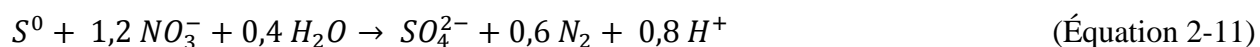
Les réactions métaboliques de la dénitrification bactérienne sont présentées par les Équations 2-7 à 2-10 (Stouthamer, 1998 ; Zumft et al., 1988). Ce processus est affecté par la température et son efficacité s'améliore à chaque augmentation de température de 4°C (Given et Meyer, 1998).



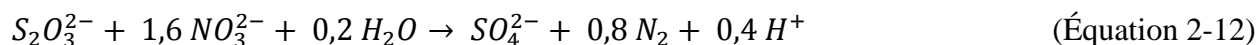
#### 2.2.3.2.2 Dénitrification par le soufre via les bactéries chimiolithotrophes

##### Dénitrification par le soufre élémentaire

Le soufre élémentaire (composé inorganique) peut être utilisé comme donneur d'électron pour la dénitrification utilisant les  $NO_3^-$ , via une culture microbienne enrichie de bactéries chimiolithotrophes dénitrifiantes (Alvarez et al., 2007 ; Li et al., 2009). Cependant, les voies métaboliques de ce processus ne sont pas bien maîtrisées (Wang et al., 2016). Le processus en question implique d'une part la dénitrification avec le soufre élémentaire (Équation 2-11) et d'une autre part la dénitrification par les thiosulfates (Équation 2-12) résultant de la solubilisation du soufre élémentaire.



$$(G^0 = -547.6 \text{ KJ/réaction})$$



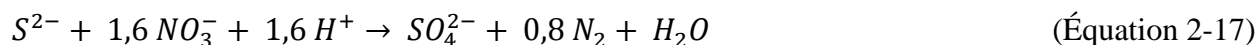
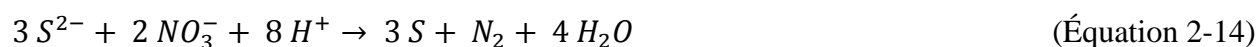
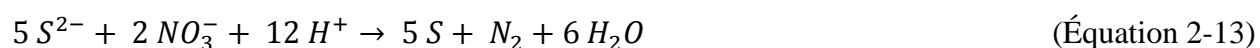
$$(G^0 = -765.5 \text{ KJ/réaction})$$

Le soufre est connu pour sa faible solubilité (minéral apolaire), raison pour laquelle sa présence dans les effluents reste limitée par le phénomène de transfert de masse et sa concentration ne dépasse pas les 0,16  $\mu\text{M}$  dans les conditions optimales (Steudel et Holdt, 1998). Ainsi, la concentration requise pour une bonne efficacité de dénitrification n'est pas la concentration stœchiométrique, mais plutôt une concentration supérieure permettant d'avoir plus de surface de contact et donc plus de  $SO_4^{2-}$  en solution. La vitesse de cette réaction de dénitrification

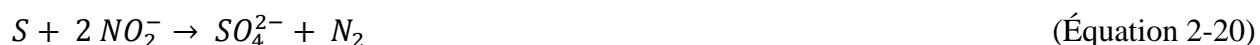
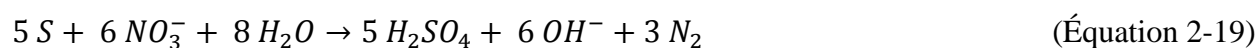
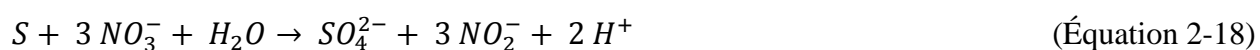
(Équation 2-11) augmente linéairement avec la concentration en soufre élémentaire jusqu'à une concentration deux fois la concentration requise théoriquement pour la dénitrification. Au-delà de cette concentration critique, la vitesse augmente toujours mais perd de sa linéarité. Alvarez et al. (2007) mentionnent l'importance de l'adaptation des microorganismes sur un milieu  $\text{NO}_3^-/\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$  pour faciliter le démarrage des réacteurs et augmenter la tolérance des bactéries aux fortes concentrations. Dans leurs études, Alvarez et al. (2007) ont traité la quasi-totalité des  $\text{NO}_3^-$  à une charge de 21,6 mmol  $\text{NO}_3^-/\text{L}$  réacteur/jr avec une efficacité supérieure à 95%. Par ailleurs, au-dessus de cette charge à l'entrée, l'efficacité du traitement a diminué rapidement. La contrainte de cette méthode pour l'industrie opérant dans un climat froid est la température, ce qui peut entraîner un chauffage de l'effluent, mise à part le contrôle rigoureux du pH. Cette méthode reste malgré tout de faible efficacité de traitement selon Jermakka et al. (2015).

#### Dénitrification par oxydation chimiolithotrophique anaérobie du soufre

Certaines bactéries chimiolithotrophes utilisent le soufre comme source d'électrons et source d'énergie, et le  $\text{NO}_3^-$  ou le  $\text{NO}_2^-$  comme accepteur d'électrons sous des conditions anaérobies. Deux processus en effet auront lieu : la dénitrification et la désulfurisation. Les étapes du processus sont présentées dans les Équations 2-13 à 2-17 (Davedova et al., 2001 ; Cardoso et al., 2006 ; Gadekar et al., 2006 ; Tang et al., 2009).



D'autres réactions d'oxydation utilisant le soufre élémentaire peuvent aussi se dérouler parallèlement à celles mentionnées. Les Équations 2-18 à 2-20 détaillent ces processus.



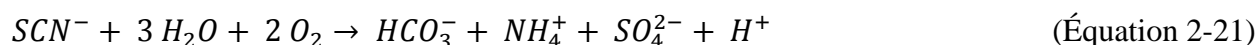
Ce processus est assuré par des bactéries comme *Thiobacillus denitrificans*, *Thiomicrospira denitrificans*, *Thiomicrospira sp. CVO* et les cultures enrichies en *Beggiatoa*, sous des conditions anaérobies (Nemati et al., 2001 ; Kamp et al. 2002 ; Viaopoulou et al., 2005 ; Tang et al., 2009).

#### 2.2.3.2.3 Dénitrification utilisant une source de carbone minéral ou organique

##### Dénitrification utilisant les $SCN^-$ comme source de carbone (carbone minéral)

Les  $SCN^-$  sont dégradés en conditions aérobies et en présence d'une source de phosphore, donnant des  $N-NH_3$ , des  $CO_3^{2-}$  et des  $SO_4^{2-}$ , via plusieurs espèces de bactéries chimiolithotrophes (ex. *Thiobacillus sp.*), qui utilisent le  $SCN^-$  en tant que source de carbone et d'azote (Équation 2-21). Le  $N-NH_3$  produit est par la suite oxydé en  $NO_2^-$  puis en  $NO_3^-$  par les bactéries nitrifiantes (Équation 2-6). Toutefois, les bactéries qui dégradent le  $SCN^-$  entrent en concurrence avec les bactéries nitrifiantes sur le carbone inorganique ou d'autres éléments nutritifs essentiels (Kim et al., 2008). Par ailleurs, la forte concentration des  $SCN^-$  peut inhiber le processus de nitrification (Kim et Kim, 2003). Une recherche menée par Kim et al. (2011) a montré que la dénitrification utilisant le  $SCN^-$  est possible après une nitrification partielle aussi appelée Processus SHARON (Nozhevnikova et al., 2012). Par augmentation de la concentration de  $SCN^-$ , les bactéries *Nitrospira* dominent les *Nitrobacter* et tolèrent mieux les conditions de haute concentration de  $SCN^-$  et de  $NO_2^-$ . L'espèce *Thiobacillus thioparus* a été montré comme potentiellement responsable de la dégradation des  $SCN^-$  (Kim et al., 2011). La Figure 2-5 illustre les principaux résultats obtenus dans ce cas.

Les résultats obtenus montrent une efficacité très importante d'enlèvement des  $SCN^-$  dans l'effluent traité. De plus, les bactéries tolèrent des concentrations croissantes en  $SCN^-$  dépassant les 700 mg/L pour une efficacité de traitement >99% (Kim et al., 2011). La recirculation dans ce procédé de traitement a permis une bonne gestion de la qualité de l'effluent à la sortie et une conservation importante de son efficacité.



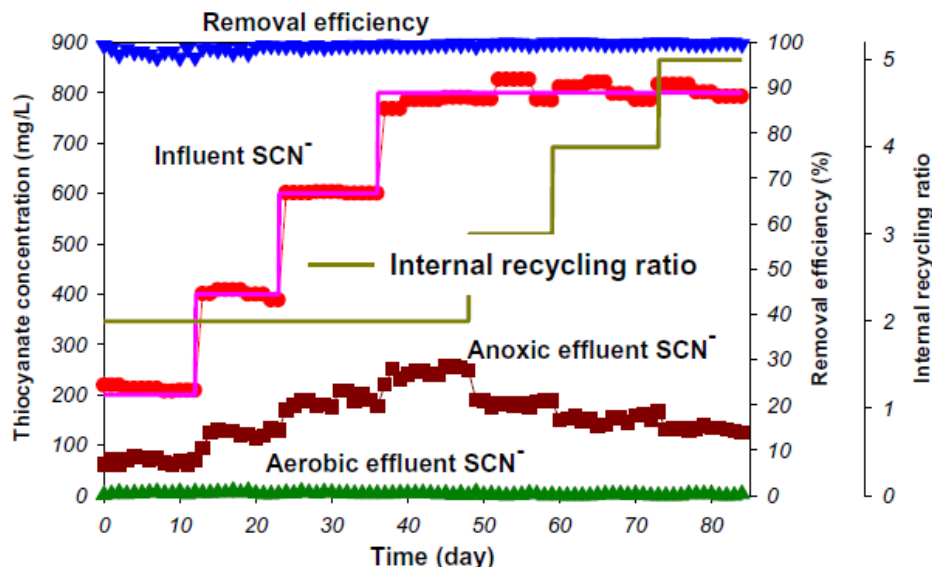
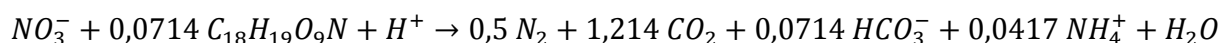


Figure 2-5: Résultats du suivi du réacteur de laboratoire de pré-dénitrification à des concentrations élevées en  $\text{SCN}^-$  (Kim et al., 2011)

#### Dénitrification par ajout d'une source de carbone organique

La dénitrification peut être réalisée également par ajout d'une source de carbone organique dans le milieu afin d'assurer un ratio de C/N de 100/25 (=4). Si ce ratio dépasse les 100/40 (=2,5) la dénitrification sera inhibée (Winkler, 2012). Ce processus implique des bactéries anaérobies hétérotrophes du genre *Pseudomonas*. Les  $\text{NO}_3^-$  agissent dans ce cas comme accepteurs d'électrons. La stœchiométrie de ce processus est présentée par l'Équation 2-22.



(Équation 2-22)

Parmi les sources de carbone organique se trouvent des molécules simples (ex. acétate, méthanol, éthanol) ou complexes (ex. bois, amidon, déchets des industries de sucreries ou laitières - effluent riche en lactose). Ces molécules complexes nécessitent une pré-hydrolyse par les bactéries hétérotrophes présentes dans le milieu pour être assimilées par la suite (Lee et Welander, 1996 ; Fernandez-Nava et al., 2010). Les molécules simples ont été montrées plus efficaces dans la dénitrification biologique et surtout l'acétate, le méthanol et l'éthanol. Cependant, certaines études confirment que le méthanol est meilleur que l'éthanol alors que d'autres études prouvent le



contraire. En effet, les travaux de Lee et Welander (1996) et de Bhuvanesh et al. (2013) ont montré que l'efficacité de dénitrification utilisant le méthanol comme source de carbone dépasse les 95% à des TRH >6 heures et elle est moindre pour l'éthanol. Cependant, l'ajout du méthanol doit être contrôlé afin d'éviter la toxicité dans le système et ainsi la mort bactérienne (Ashok et Hait, 2015). Par ailleurs, des études comme celles menées par Christensson et al. (1994) et Gomez et al. (2000) ont conclu que l'éthanol est plus facilement disponible que le méthanol et le sucrose comme source d'énergie et qu'il montre une meilleure efficacité de dénitrification. De plus, selon ces deux études, le temps nécessaire pour l'adaptation des bactéries dénitrifiantes à l'éthanol est plus court que celui nécessaire pour s'adapter au méthanol. La limite de l'éthanol selon Glass et Silverstein (1998) est qu'il favorise l'accumulation des  $\text{NO}_2^-$  lors de traitement d'un effluent fortement chargé en  $\text{NO}_3^-$ . Il est donc difficile de trancher entre ces deux conclusions opposées des chercheurs, mais d'une manière pratique, une étude de traitabilité de l'effluent réel avec les deux substrats (éthanol et méthanol) s'avère nécessaire afin de justifier le choix pour l'un ou l'autre. D'un côté économique, le méthanol est moins coûteux que l'éthanol et constitue donc une bonne alternative pour les industries. Mise à part ces sources de carbone utilisées généralement dans la dénitrification en milieu aqueux, l'utilisation des copeaux de bois comme source de carbone a été aussi révélée comme une alternative de dénitrification surtout pour les cas de dénitrification en milieu solide et aussi aqueux (Hang et al., 2016). Ceci est dû surtout à leur faible coût, leur disponibilité et leur richesse en carbone et en azote avec un ratio C/N élevé (Gibert et al., 2008). Cette alternative de dénitrification présente une efficacité positivement corrélée à la température, alors que la taille des copeaux de bois ne présente pas un facteur d'influence sur l'efficacité (Shmidt et Clarck, 2013). La limite de cette alternative reste le TRH assez élevé (Gibert et al., 2008), qui est de 2 jours pour une efficacité de dénitrification de >99%. Ceci est expliqué par le temps mis pour l'hydrolyse de la cellulose et de l'hémicellulose pour donner le glucose qui est assimilable par les bactéries dénitrifiantes. Par ailleurs, une étude récente de Yamashita et al. (2016) a montré que la dénitrification utilisant le bois comme source de carbone en 24 h est possible après une action de bactéries sulfato-réductrices sur le bois. En effet, en favorisant des conditions optimales pour les bactéries sulfato-réductrices durant 57 jours, ceci a permis de traiter une eau synthétique de 85 mg de  $\text{NaNO}_3/\text{L}$  et une meilleure efficacité de dénitrification de 62,4 g  $\text{NO}_3^-/\text{m}^3/\text{jr}$ . Selon cette étude, les bactéries sulfato-réductrices (*Desulfobulbus spp.* et *Desulfomicrobium spp.*) dégradent

partiellement le bois produisant ainsi des acides organiques qui seront par la suite utilisés par les bactéries hétérotrophes dénitrifiantes dans le processus d'enlèvement de  $\text{NO}_3^-$ .

Mis à part l'ajout de carbone organique, lorsque les microorganismes cessent leur activité biologique, la lyse des membranes bactériennes constitue aussi une source de matière organique. Les parois des bactéries hydrolysées sont riches en carbone et en azote (Koenig et al., 2005 ; Torrento et al., 2011). C'est surtout lors de l'absence de source de carbone simple que les membranes des bactéries mortes sont assimilées par les autres bactéries dans un processus appelé minéralisation de la biomasse, où seules les bactéries hétérotrophes sont impliquées (Choubert, 2002 ; Ashok et Hait, 2015). La minéralisation de la biomasse vivante se produit conformément à l'Équation 2-23 et génère 0,09 g N/g  $\text{DCO}_{\text{éliminé}}$  soit 0,12 g N/g  $\text{MVS}_{\text{éliminé}}$  et le carbone produit est utilisable pour la dénitrification (Choubert, 2002).



#### Comparaison des technologies de traitement par nitrification-dénitrification

Le traitement de la pollution azotée dans les effluents des mines d'or par nitrification-dénitrification biologique repose sur plusieurs technologies détaillées au Tableau 2-6. Certaines sont développées à échelle laboratoire et d'autres à échelle industrielle. L'efficacité d'un système peut varier selon la configuration et le dimensionnement des bioréacteurs (laboratoire et industrielle) et avec un effluent synthétique ou réel. Les réacteurs utilisés peuvent être classés en deux groupes : les réacteurs qui utilisent des supports pour les bactéries (lit fixe, MBBR, biofilm suspendu) et les réacteurs qui n'utilisent pas de support (batch séquentiel, UASB, STR). Les efficacités de traitement obtenues par les bioréacteurs utilisant un support pour les bactéries est meilleure [ $>99\%$  pour le lit fixe (Trois et al., 2010) vs.  $90\%$  pour STR+ UPBR (Koren et al., 2000)]. Le recours à l'utilisation du carbone minéral pour la dénitrification n'est pas très développé dans la littérature (Kim et al., 2011). En contrepartie, diverses sources de carbone organique ont été testées (méthanol, éthanol, acétate, paille de blé, glucose, des enrichissements en carbone organique) avec des efficacités satisfaisantes entre  $82$  et  $>99\%$  (Tableau 2-6), mais les charges initiales à traiter dans ces études étaient différentes. La marge des températures dans ces travaux de recherche varie de  $2^\circ\text{C}$  à  $35^\circ\text{C}$  permettant l'application de ces technologies dans des conditions climatiques différentes (même dans des conditions nordiques).

Tableau 2-6: Comparaison de différentes études utilisant l'approche nitrification-dénitrification

Type du réacteur	Nitrification			Dénitrification			Référence
	Concentration des composés azotés à l'entrée (mg/L)	Conditions appliquées	Efficacité (%)	Source de carbone	Conditions appliquées	Efficacité (%)	
Aéré puis décanté	[N-NH <sub>3</sub> ] = 0,24	- Effluent synthétique - 72 min aération - 48 min décantation - TRH : 13-25 h - T : 22-27°C	>90	Acétate	- Ratio C:N = 5:1 et 10:1 - TRH : 17-31 h - [O <sub>2</sub> ] < 1,2 mg/L	-	Yoo et al. (1998)
STR + UPBR	[N-NH <sub>3</sub> ] = 100	- TRH : 80 h - Débit : 0,45 mL/min	98 mg N-NH <sub>3</sub> /L /jr	-	- Ratio méthanol : NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> = 0,86:1	90	Koren et al. (2000)
-	[N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> ] = 7	- Effluent réel - T : 15 °C - pH : 7	-	Acétate	- Activité spécifique : 3,324 mg N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> /mg MVS/h	61,7-99,3	Komorowska-Kanfnian et al. (2006)
UASB	[N-NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> ] = 5 kg/m <sup>3</sup> /jr	- Effluent synthétique - T : 23 °C - pH : 7,85	-	Acétate	-	- 93,5 - (4,67 kg N-NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> /m <sup>3</sup> /jr)	Ruiz et al. (2006)
Lit fixe	[N-NH <sub>3</sub> ] = 2-83	- T = 5°C - [N-NH <sub>3</sub> ] = 0,33-2,42 g/m <sup>2</sup> /jr	98	Méthanol	- [N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> ] = 12-86 mg/L	95	Zaitsev et al. (2008)

Tableau 2-6 : Comparaison de différentes études utilisant l'approche nitrification-dénitrification (Suite)

Type du réacteur	Nitrification			Dénitrification			Référence
	Concentration des composés azotés à l'entrée (mg/L)	Conditions appliquées	Efficacité (%)	Source de carbone	Conditions appliquées	Efficacité (%)	
Batch séquentiel à biofilm	[N-NH <sub>3</sub> ] = 50	- Effluent synthétique	97 (86,5 mg N-NH <sub>3</sub> /L/jr)	-	- Recirculation - [N-NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> ] = 0,2 mg/L - [N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> ] = 4,6 mg/L - [N-NH <sub>3</sub> ] = 1 mg/L	-	Andrade do Canto et al. (2008)
UASB et BRM combinés	-	- T = 28-30°C - pH = 7,8-8,1 - Effluent synthétique - Recirculation : 50-800%	-	Ajout de carbone organique	-	48,1-82,8 (N total)	An et al. (2008)
Hybride séquentiel	-	- [O <sub>2</sub> ] = 2,5 mg/L	68-85	Carbone organique dissout	- [O <sub>2</sub> ] = 0,3-1,5 mg/L - COD = 4 kg/m <sup>3</sup> /jr	93,5	Wang et al. (2008)
Avec support en gel	-	- Échelle pilote - Effluent réel - Bactérie : <i>Nitrosomonas europaea</i>	95 (6 g N/jr)	Éthanol	- Bactérie : <i>Paracoccus denitrificans</i>	98,4	Morita et al. (2008)
Biofilm suspendu fluidisé	[N-NH <sub>3</sub> ] = 1150	- Deux étages en batch - T : 19,4-23,6 °C - pH = 7 - volume : 1,5 L	>99	Biofilm de glucose	- Volume : 0,8 L - [O <sub>2</sub> ] = 0-0,9 mg/L	158 g N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> /m <sup>3</sup> /jr	Walters et al. (2009)

Tableau 2-6 : Comparaison de différentes études utilisant l'approche nitrification-dénitrification (Suite)

Type du réacteur	Nitrification			Dénitrification			Référence
	Concentration des composés azotés à l'entrée (mg/L)	Conditions appliquées	Efficacité (%)	Source de carbone	Conditions appliquées	Efficacité (%)	
Lit fixe en batch	-	-	-	Paille de blé	- [N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> ] = 700 mg/L - T : 25 °C	>99 (168 g N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> /m <sup>3</sup> /jr)	Trois et al. (2010)
-	[N-NH <sub>3</sub> ] = 64-129	- Bactérie : <i>Nitrosomonas europaea</i> - [SCN <sup>-</sup> ] = 72-278 g/L	>98	SCN <sup>-</sup>	- Ratio de recyclage : 2 à 5 - [N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> ] = 95-179 g/L/jr	-	Kim et al. (2011)
-	-	-	-	Méthanol, éthanol	- [N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> ] = 68 mg/L - TRH : 13 h - Volume traité : 3,4 L - pH : 7	>96	Naik et Setty (2011)
MBBR en batch (traitement des composés azotés et du sélénium)	-	- 10, 4 et 2°C - 80 jr	>99 (Traitement inefficace si CaCO <sub>3</sub> < 50 mg/L N-NH <sub>3</sub> < 0,2 mg/L)	Méthanol, éthanol	- 10°C - 4°C - [N-NO <sub>x</sub> ] = 6 mg/L	>90 (N-NO <sub>x</sub> résiduel < 0,5 mg /L)	Dale et al. (2015)

### La nitrification-dénitrification par la technologie MBBR

La technologie de MBBR s'avère l'alternative de bioréacteur la plus efficace en nitrification-dénitrification surtout dans des conditions nordiques. En effet, grâce à la structure des médias sur lesquels se développent les bactéries, une plus grande surface de contact avec l'effluent est garantie. Les premiers MBBR développés étaient caractérisés par une surface spécifique de  $500 \text{ m}^2/\text{m}^3$  et aujourd'hui, les MBBR de type K8 de dernière génération ont une surface spécifique de  $800 \text{ m}^2/\text{m}^3$  (Dale et al., 2015). Grâce à leur faible densité ( $0,95$  à  $0,98 \text{ kg}/\text{dm}^3$ ), les MBBR peuvent être maintenus en suspension facilement simplement par aération dans les systèmes aérobies et par faible agitation dans les systèmes anaérobies (Ødegaard et al., 1999 ; Ødegaard et al., 2004). De plus, les MBBR sont plus résistants aux chocs toxiques dans l'effluent avec l'avantage de l'auto-nettoyage (l'excès de la biomasse et la biomasse morte de détache des médias sous l'effet de l'agitation et sera lessivé). La technologie de MBBR a montré son efficacité en traitement des effluents municipaux et industriels, même à faible température ( $1^\circ\text{C}$  ; Haong et al., 2014 ; Dale et al., 2015 ; Villemur et al., 2015). En conclusion, les MBBR semblent être la meilleure configuration de bioréacteur qui devrait assurer une bonne efficacité de traitement des composés azotés dans les effluents miniers.

#### 2.2.3.2.4 Dénitrification Anammox

Le procédé Anammox ou « anaerobic ammonia oxydation » (Figure 2-6) est un mécanisme microbiologique durant lequel le  $\text{N-NH}_3$  est oxydé par les  $\text{NO}_2^-$  pour former une molécule d'azote gazeux selon l'Équation 2-24 (Nozhevnikova et al., 2012).



La réaction est possible aussi avec le  $\text{NO}_3^-$  comme accepteur d'électrons (Équation 2-25).



En effet, thermodynamiquement, le  $\text{N-NH}_3$  peut être un donneur d'électrons pour la réduction du  $\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$ , en conditions anaérobies (Jay et al., 2007).

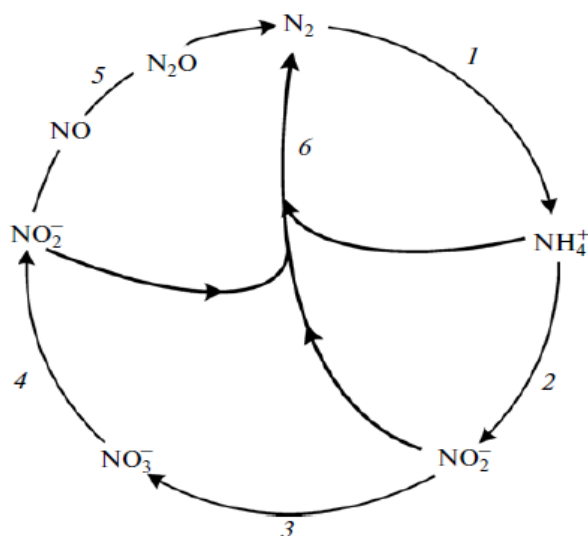
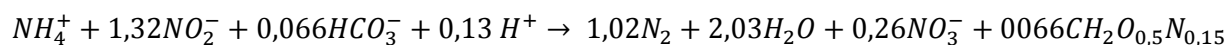


Figure 2-6: Cycle microbien de l'azote (Jetten, 2008)

(1) Fixation d'une molécule d'azote (Bactérie fixatrice d'azote), (2) fixation du  $N_2$  et nitrification (BAO), (3) Nitrification (BNO), (4) dénitrification (bactérie nitrate-réductase), (5) dénitrification (bactérie nitrite-réductase), (6) Anammox : (bactérie Anammox)

### Les microorganismes impliqués

La première bactérie Anammox isolée et identifiée est *Candidatus Scalindua sorokinii* par l'analyse de l'ARN ribosomal 16S. Cette bactérie provient de la Mer Noire, située entre l'Europe, le Caucase et l'Anatolie. D'autres bactéries d'activités similaires ont été isolées des sédiments et les estuaires peu profonds au Danemark. Jusqu'en 2004, uniquement 3 genres de bactéries Anammox ont été identifiés : *Candidatus brocadia*, *Candidatus kuenenia* et *Candidatus scalindua*, qui appartiennent toutes à l'ordre des *Planctomycetes*. Cependant, aucune d'entre elles n'a été encore isolée dans une culture pure (Van Niftrik et al., 2004). Ces bactéries ont été connues pour être strictement chimioautotrophes anaérobies, qui fixent le  $CO_2$  en présence de  $NO_2^-$ . Une concentration faible en oxygène au point de  $1,1 \mu M$  est totalement inhibitrice pour ces microorganismes. Par ailleurs, elles tolèrent l'exposition à l'oxygène et reprennent leur activité rapidement une fois l'anaérobiose rétablie (Jay et al. 2007). La réaction globale du processus est représentée par l'Équation 2-26 (Strous et al., 1997).



(Équation 2-26)

En 2007, la bactérie *Anammoxoglobus propionicus* a été isolée et a été montrée capable de métaboliser le propionate (Kartal et al., 2007). De plus, d'autres recherches ont montré que certaines bactéries hétérotrophes sont aussi dotées d'une activité Anammox et peuvent utiliser une source de carbone organique (formiate, acétate et propionate) et les oxyder en CO<sub>2</sub> (Nozhevnikova et al., 2012). Ces bactéries Anammox hétérotrophes sont capables de produire le NO<sub>2</sub><sup>-</sup> pour leur métabolisme, à partir du NO<sub>3</sub><sup>-</sup>. Ceci vient donc contredire les conclusions de Jay et al. (2007) pour dire enfin que les bactéries Anammox ne sont pas que des chimiolithoautotrophes. Le Tableau 2-7 illustre les espèces qui peuvent être dotées d'une activité Anammox.

Tableau 2-7: Microorganismes dotés d'une activité Anammox

Genre	Espèce	Milieu de l'isolement
<i>Brocadia</i>	<i>anammoxidans</i> <sup>1</sup>	Boue activée de réacteur anaérobie
	<i>julgida</i> <sup>2</sup>	
<i>Kuenenia</i>	<i>stuttgartiensis</i> <sup>3</sup>	
<i>Scalindua</i>	<i>brodae</i> <sup>4</sup>	Eaux plates Namibiennes/ Boue activée de réacteur anaérobie
	<i>wagneri</i> <sup>4</sup>	Boue activée de réacteur anaérobie
	<i>sorokinii</i> <sup>5</sup>	Zone anaérobie de la mer noire
	<i>arabica</i> <sup>6</sup>	Sédiments marins
<i>Jettenia</i>	<i>asiatica</i> <sup>7</sup>	Boue activée de réacteur anaérobie
<i>Anammoxoglobus</i>	<i>propionicus</i> <sup>8</sup>	

<sup>1</sup> : Strons et al. (1999) ; <sup>2</sup> : Kartal et al. (2004) ; <sup>3</sup> : Schmid et al. (2000) ; <sup>4</sup> : Schanid et al. (2003) ;

<sup>5</sup> : Kupers et al. (2003) ; <sup>6</sup> : Woebken et al. (2008) ; <sup>7</sup> : Tsuahima et al. (2007) ;

<sup>8</sup> : Kartal et al. (2007).

#### Utilité de l'approche Anammox dans la dénitrification des effluents des mines d'or

L'approche Anammox (Figure 2-6) a été prouvée à échelle laboratoire pour sa capacité de contourner le problème d'accumulation du N-NH<sub>3</sub> dans les effluents de mines d'or. Par ailleurs, l'utilisation de cette méthode nécessite un contrôle judicieux des conditions opératoires comme la température qui devrait avoisiner les 37°C, bien que dans le processus naturel, ces microorganismes tolèrent des températures allant de -1 à 24°C (Rysgaard et Guld, 2004). D'autres études ont montré



que l'application de l'approche Anammox à de basses températures reste possible. L'inconvénient reste la stabilité du processus à des températures  $< 20^{\circ}\text{C}$  qui devient incontrôlable (Isaka et al., 2008 ; Hendrickx et al., 2012). D'autres recherches ont montré la possibilité de procéder par une approche Anammox à des températures aussi basses que  $12^{\circ}\text{C}$  (Varquez-Padin et al., 2009 ; Ziyé et al., 2013). En effet, dans ces deux travaux, une pré-nitrification a été réalisée sur l'effluent ainsi qu'une acclimatation des microorganismes avec un effluent synthétique et à de basses températures progressivement (Tableau 2-8). Cette combinaison de la nitrification partielle suivie par le procédé Anammox est recommandée par Varquez-Padin et al. (2009) pour traiter le  $\text{N-NH}_3$  de l'effluent en question sans recours à un ajout de source de carbone dans le milieu. L'idée réside dans le contrôle de la nitrification de manière à favoriser la nitrification ( $\text{N-NH}_3 \rightarrow \text{NO}_2^-$ ) et inhibant la nitrification ( $\text{NO}_2^- \rightarrow \text{NO}_3^-$ ). Le développement des bactéries ammoniac-oxydantes (BAO) sera donc favorisé en dépit des bactéries nitrite-oxydantes (BNO). Les trois méthodes suivantes permettent d'avoir une domination des BAO par rapport aux BNO :

- Augmenter la concentration de  $\text{N-NH}_3$  libre en travaillant à pH élevé : ceci va inhiber les BNO qui sont plus sensibles que les BAO aux fortes concentrations de  $\text{N-NH}_3$  libre (Authonisen *et al*, 1976) ;
- Diminuer la concentration de l'OD dans la solution : les BAO ont plus d'affinité à l'oxygène que les BNO (Wisemann, 1994) ;
- Réaliser le traitement à une température supérieure à  $25^{\circ}\text{C}$  puisque les BAO tolèrent plus les hautes températures que les BNO. Ce principe est utilisé par la technologie SHARON qui consiste en un réacteur infiniment mélangé avec un TRH de 1 jour à  $30^{\circ}\text{C}$ . Ceci permet un développement des BAO et un lessivage des BNO (Hellings et al., 1998).

D'après la comparaison des deux travaux présentés par le Tableau 2-8, le débit réel utilisé dans les deux cas est de 1 L/jr, donc un TRH de 24 heures. Par ailleurs, Ziyé et al. (2013) ont pu pousser les conditions expérimentales de la température jusqu'à  $12^{\circ}\text{C}$  en évitant une accumulation de  $\text{N-NH}_3$  dans le réacteur (pas d'inhibition des bactéries Anammox), d'une part, et en traitant 90% de l'azote total, d'autre part. Par ailleurs, les travaux de Varquez-Padin et al. (2009) ont montré qu'une acclimatation des microorganismes à une autre température donnera la même efficacité de

traitement. Dans leur cas, l'enlèvement de l'azote a atteint 1,1 g N/L/jr ; une efficacité comparable à celle dans les systèmes à plus hautes températures (0,075-1,5 g N/L/jr).

Tableau 2-8 : Comparaison entre deux traitements Anammox à basse température et à température ambiante

Paramètre	Varquez-Padin et al. (2009)	Ziye et al. (2013)
Acclimatation des bactéries	Acclimatation avec un effluent synthétique, puis test avec l'effluent réel	
Type de réacteur	RBS	
Volume opérationnel (L)	1	5
TRH (jr)	1	5
Température d'acclimatation (°C)	20 ± 1	30
Abaissement de la température	Température constante à 20 ± 1°C	1 <sup>ère</sup> méthode : - Passage de 30°C à 15°C en deux mois à raison de 5°C à la fois (pour l'acclimatation) 2 <sup>ème</sup> méthode : - Passage de 30°C à 25°C en un seul jour après acclimatation. - Passage à 12°C entre jour 125 et jour 136
pH	7,5 (sans ajustement)	~7,3 (ajustement du pH)
Vitesse d'agitation (rpm)	100	200
OD (mg/L)	2 au départ sans compensation	7,54 après 2 semaines
Temps du cycle	6 heures : - 300 min : alimentation - 30 min : homogénéisation - 20 min : précipitation - 10 min : soutirage	12 heures : - 11 h : alimentation - 20 min : précipitation - 40 min : soutirage
Durée du test (jr)	400	350

#### Comparaison de différentes approches Anammox

Différentes études appliquant la dénitrification par l'approche Anammox sont citées au Tableau 2-9.

Tableau 2-9 : Comparaison de différentes études utilisant l'approche Anammox

Type du réacteur	Concentration des composés azotés à l'entrée (mg/L)	Conditions opératoires	Efficacité (%)	Référence
Batch séquentiel	- [N] = 1500 (10,62 – 20,3 kg N/m <sup>3</sup> /jr)	- TRH : 2,6 h - T : 22-32 °C	- >99 (N-NH <sub>3</sub> ) - >99 (N-NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> ) - 88 (N total) - 9,3 kg N/m <sup>3</sup> /jr	Zhao et al. (2014)
Relevage à gaz	- [N] = 2 g/L/jr - [N-NH <sub>3</sub> ] = 70 - [N-NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> ] = 70	- Suivi sur 200 jr - Activité spécifique : 0,9 gN/gMVS/jr - T : 30°C - pH : 8 - Volume : 3 L - TRH : 0,625-1 jr - Inoculum : 0,36 g/L	- 88 (N total) - >99 (N-NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> ) - Activité spécifique maximale : 1,15 g N/gMVS/jr	Dapena-Mora et al. (2004)
Batch séquentiel	- [N] = 0,75 g/L/jr - [N-NH <sub>3</sub> ] = 375 - [N-NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> ] = 375	- Suivi sur 200 jr - Activité spécifique : 0,44 gN/gMVS/jr - T : 35°C - TRH : 6 h - Rotation : 70 rpm - pH : 7,8-8 - Inoculum : 1,5 g/L	- 78 (N total) - Activité spécifique maximale : 0,5 g N/gMVS/jr	Dapena-Mora et al. (2004)
Flux ascendant à lit de boue	- [N-NH <sub>3</sub> ] = 110	- Effluent synthétique - TRH : 5 jr	- 92 (N-NH <sub>3</sub> ) - 92 (N total)	Ahn et Choi (2006)
	- [N-NH <sub>3</sub> ] = 438	- Effluent synthétique - TRH : 7 jr	- 94 (N total)	

Tableau 2-9 : Comparaison de différentes études utilisant l'approche Anammox (Suite)

Type du réacteur	Concentration des composés azotés à l'entrée (mg/L)	Conditions opératoires	Efficacité (%)	Référence
Anaérobie filtré	- $[(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4] = 440-1650$	- Effluent synthétique - Polyesters comme support - T : 37°C et 20-22°C - TRH : 180 min - Inhibition si $\text{N-NO}_2^- > 280$ mg/L - $\text{N-NH}_3$ : $\text{NO}_2^- = 1:1,32$ - pH : 7,2	- 3,3-11,5 kgN/m <sup>3</sup> /jr (37°C) - 8,1 kgN/m <sup>3</sup> /jr (20-22°C)	Isaka et al. (2008)
Batch séquentiel	-	- Échelle laboratoire - Volume : 5 L - T : 12°C - Suivi sur 300 jr - Accumulation faible en $\text{NO}_2^-$ (6 mg/L)	- 90 (N total)	Hu et al. (2013)
Lit fixe	- $[\text{N-NO}_3^-] = 30$ - $[\text{N-NO}_2^-] = 0,5$ - $[\text{N-NH}_3] = 0,8$	- Échelle pilote (Suède) - Volume : 27 m <sup>3</sup> - TRH : 15 h - Température moyenne annuelle : -1°C	- 14-47 (N- $\text{NO}_3^-$ )	Roger et al. (2014)
RBS avec relevage à gaz	- $[\text{N}] = 60-160$	- Échelle laboratoire - T : 10-20 °C - Suivi sur 500 jr - TRH : 0,23-0,3 jr	- 75-85 - 0,4 gNtot/L/jr	Lotti et al. (2014)
-	- $[\text{N-NO}_3^-] = 0,5$ - $[\text{N-NO}_2^-] = 0,4$ - $[\text{N-NH}_3] = 1900-2100$ - $[\text{N}] = 1850-2150$ (0.76 kg N/m <sup>3</sup> /jr)	- Acclimatation sur 40 jr - Volume : 15 L - T : 31-33°C - Inoculum : 3,5-4,2 g/L - TRH : 18,4 h - pH : 7,8-8,2 - $[\text{O}_2] \sim 0$ mg/L	- 90 (N- $\text{NH}_3$ )	Miao et al. (2014)

L'approche Anammox est bien efficace pour la dénitrification à échelle laboratoire, mais présente des limites d'efficacité lors de l'extrapolation à pleine échelle. Ceci met l'accent sur l'importance des travaux de recherches futures pour l'optimisation des paramètres étudiés. En effet, la température exigée dans les réacteurs ( $>30^{\circ}\text{C}$ ) est très élevée comparativement à celles dans un climat semblable à celui du Canada (les moyennes mensuelles varient de  $-10,2^{\circ}\text{C}$ , en janvier, à  $20,9^{\circ}\text{C}$ , en juillet, entre 1957 et 1980 ; Météo Média, 2016), d'où la nécessité d'un réchauffement de l'eau pour l'application de cette approche à l'échelle industrielle. En même temps, la technologie de dénitrification Anammox présente l'avantage de ne pas avoir nécessairement recours à un ajout d'une source de carbone organique dans le milieu, ce qui permet de réduire les coûts et l'installation d'un bac d'alimentation comme dans le cas de la dénitrification par ajout d'une source de carbone organique. Les bactéries dotées d'une activité Anammox ont aussi une très forte affinité au  $\text{N-NH}_3$  ce qui permet une meilleure spécificité de réaction. Par ailleurs, son désavantage majeur reste l'activité métabolique très faible et le temps de génération très important. La réaction est aussi inhibée par des concentrations supérieures à 20 mM en  $\text{NO}_3^-$  ou si les concentrations en oxygène dépassant les 2  $\mu\text{M}$  (aussi par la présence de certains composés organiques). Le pH, quant à lui, doit être très bien contrôlé. Tous ces facteurs rendent moins efficace ce traitement à pleine échelle ou à échelle intermédiaire. Les meilleures efficacités observées pour cette approche ont été mesurées plutôt à l'échelle laboratoire (Jermakka et al., 2015).

## 2.3 Synthèse des connaissances

Pour les mines d'or en opération, le choix d'une technologie de traitement de la pollution azotée peut être fait entre les procédés physiques et/ou chimiques et/ou biologiques. Ce choix n'est pas arbitraire et dépend de plusieurs paramètres tels que la qualité de l'effluent à traiter (forte/faible charge polluante), la pollution azotée à traiter ( $\text{CN}^-$ ,  $\text{SCN}^-$ ,  $\text{N-NH}_3$ , etc.) et le débit. Les technologies physiques sont efficaces pour le prétraitement en cas de débits importants et de faibles charges polluantes. L'effluent issu de ce traitement est concentré en pollution azotée avec un volume réduit et nécessitera donc un traitement avant déversement. Le désavantage majeur des technologies physiques reste le coût très élevé associé aux besoins énergétiques et à l'entretien des équipements. Les technologies chimiques sont efficaces pour le traitement de fortes concentrations. En lien avec

les technologies physiques, un traitement chimique sera efficace en aval d'un prétraitement physique. Les efficacités des systèmes chimiques sont généralement stables et peu dépendantes de la variabilité dans la composition des effluents (contamination, variation de concentration) et des conditions opératoires (température, concentration en ions). Les désavantages majeurs de ces systèmes sont la faible efficacité face à certains contaminants ( $\text{SCN}^-$ ) et les coûts associés aux produits chimiques à utiliser. Les technologies biologiques pour traiter la pollution azotée ont été largement développées donnant des efficacités variables (~40% à >99%) selon le processus envisagé. En effet, le traitement biologique par dénitrification hétérotrophe (avec source de carbone organique) a montré une meilleure efficacité de traitement comparé à la dénitrification autotrophe [avec source de carbone minéral ( $\text{SCN}^-$ ) ou utilisant  $\text{N-NH}_3$  (Anammox)]. Ceci est dû à la cinétique plus rapide des microorganismes hétérotrophes en comparaison aux bactéries autotrophes. Malgré cette différence, la dénitrification autotrophe a été trouvée efficace selon plusieurs études à l'échelle de laboratoire dans le traitement de la pollution azotée. Ces technologies biologiques de dénitrification nécessitent, en général, un prétraitement chimique et/ou physique pour enlever toute source de contamination pouvant arrêter/inhiber les bactéries. Donc, les technologies biologiques se trouvent en dernière étape de traitement des effluents, juste avant le déversement dans un milieu récepteur. Les technologies biologiques sont aussi efficaces pour le traitement des espèces qui résistent aux traitements chimiques, tel que les  $\text{SCN}^-$ . La limite de ces technologies est la sensibilité aux variations dans le système (température, pH, charge, contamination) ce qui engendre une inhibition ou un arrêt du traitement qui pourraient être parfois irréversibles (morts des bactéries). En résumé, chaque technologie de traitement a ses avantages et ses limites. Le choix d'une ou de plusieurs technologies de traitement doit être validé par des essais à petite et/ou moyenne échelle.

## 2.4 Besoins en recherche

Les technologies d'enlèvement de la pollution azotée dans les eaux usées municipales ne sont pas nécessairement efficaces pour les effluents des mines d'or. En effet, ces derniers diffèrent beaucoup par leur composition chimique (contenus faibles en matière organique et riches en composés azotés vs. charge importante en matière organique pour les eaux usées) et leur variabilité (qualité différente d'une mine à une autre, dépendant du gisement exploité). Le choix d'une technologie de dénitrification pour des mines situées dans des conditions nordiques, comme dans

plusieurs régions du Canada, présente un autre défi pour les industriels. Le besoin de ces industries est de trouver une technologie permettant une bonne efficacité de dénitrification, qui ne nécessite pas un chauffage intensif pour minimiser les coûts avec un contrôle minimal des paramètres physicochimiques du procédé comme le pH.

## 2.5 Description du site à l'étude

Agnico Eagle est une compagnie aurifère de classe mondiale ayant surtout des opérations au Québec. Sa mine LaRonde située à Rouyn-Noranda, Québec, produit environ 245 800 onces d'or annuellement et ce avec une production secondaire de 156 tonnes d'argent, 7 300 tonnes de cuivre et 82 000 tonnes de zinc. Cette mine donne un grand intérêt au respect de l'environnement en adoptant une stratégie de « bio-exploitation minière » visant le moins d'impact négatif possible sur l'environnement (Laporte, 2015). Le système actuel de traitement des effluents de la mine LaRonde (Figure 2-7) a connu plusieurs changements et de nombreux investissements ont été faits depuis 2003-2004 pour maintenir la qualité des effluents conforme à la réglementation en vigueur (Laporte, 2015). En effet, l'effluent de la mine passe par deux étapes de traitement ; UTE et UTFE. Au sein de l'UTE (Figure 2-7), un traitement chimique est réalisé où l'oxydation avec le peroxyde d'hydrogène et les silicates permet de transformer les  $\text{CN}^-$  libres en cyanates ( $\text{CNO}^-$ ) puis de les transformer, en partie, en  $\text{N-NH}_3$  (Lavoie, 2008). La limite de cette étape est surtout vis-à-vis des  $\text{SCN}^-$  qui ne sont pas dégradés. En effet, les effluents de la mine sont très riches en  $\text{SCN}^-$  en raison de la présence de concentrations importantes du soufre dans le gisement exploité (Lavoie, 2008). Pour cette raison, l'usine UTFE visant le traitement biologique a été installée en 2004 fonctionnant avec des bio-disques rotatifs (Laporte, 2015). Ce système a montré plusieurs problèmes opérationnels et nécessitait beaucoup de maintenance surtout que le développement des bactéries sur les bio-disques rotatifs les a alourdi causant la rupture des arbres de rotation et, ainsi, l'arrêt du traitement. Ce système fut changé en 2012-2013 par des médias pour les bactéries consistant en l'utilisation de la technologie MBBR (Figure 2-7). Le nouveau système a montré son efficacité pour oxyder la pollution azotée en  $\text{NO}_3^-$  et a permis un traitement record en 2014 avec plus de 2,1 million de  $\text{m}^3/\text{an}$  poussant ainsi l'industrie à arrêter son usine de traitement de l'ammoniac (Laporte, 2015).

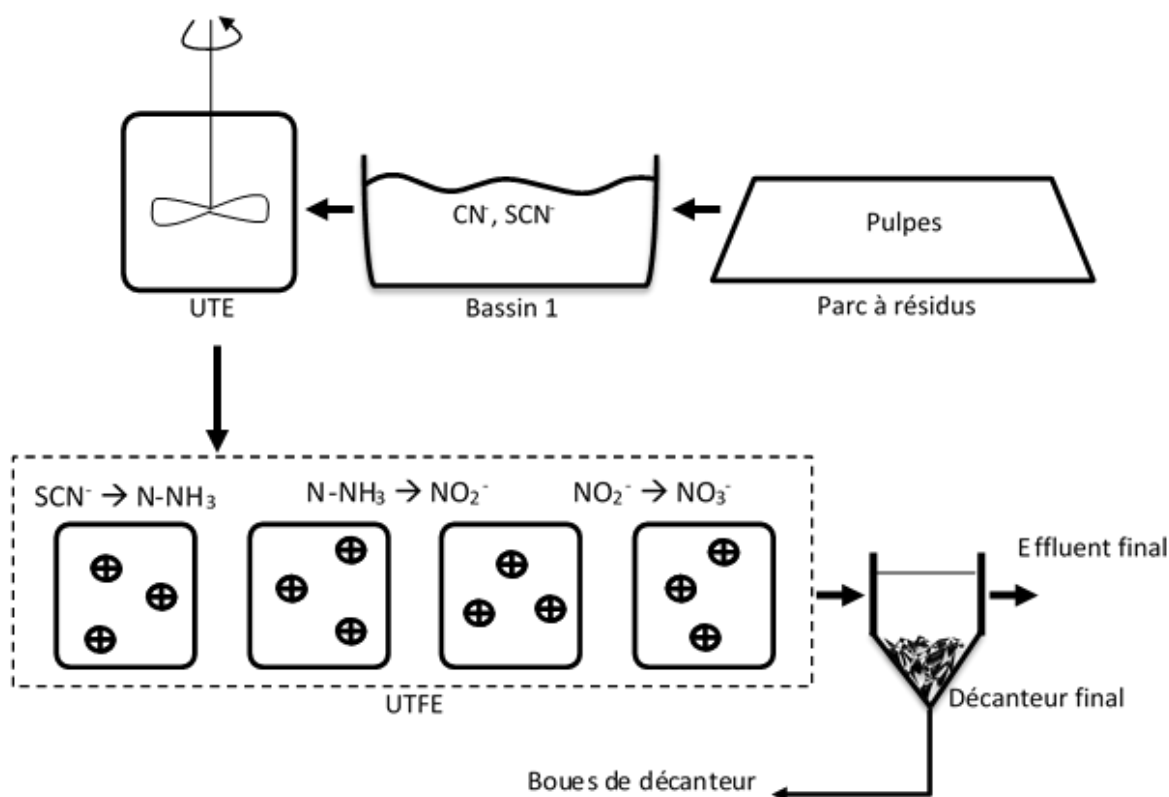


Figure 2-7: Schéma du traitement des étapes de traitement de l'effluent de la mine LaRonde

Dans la présente étude, deux types d'effluent de la mine LaRonde ont été utilisés. Le premier type est l'effluent en provenance de la sortie de l'UTFE, qui est chargé en  $NO_3^-$ . La dénitrification biologique hétérotrophe de cet effluent par ajout d'une source de carbone organique pourrait réduire ces concentrations. Le deuxième type d'effluent est celui à l'entrée de l'UTFE, qui est riche en  $SCN^-$  pouvant être utilisés comme source de carbone minéral pour la dénitrification biologique autotrophe. Des boues échantillonnées dans le fond du décanteur final de la mine (après l'UTFE, Figure 2-7) pouvant contenir les bactéries appropriées ont également été utilisées. Avant d'évaluer l'efficacité des approches mentionnées, la présence d'une activité dénitrifiante dans les boues de la mine doit être confirmée. De plus, une source de carbone organique donnant une efficacité satisfaisante de dénitrification, tout en restant peu coûteuse, doit être choisie.



## CHAPITRE 3 MATÉRIELS ET MÉTHODES

Afin d'évaluer la dénitrification biologique pour améliorer le traitement des  $\text{SCN}^-$ ,  $\text{N-NH}_3$ ,  $\text{NO}_2^-$  et  $\text{NO}_3^-$ , la présente étude a été menée en trois étapes. D'abord, des essais en batch consistant en la mise en contact de mélanges d'effluents synthétiques avec la boue de la mine LaRonde ont été réalisés afin d'évaluer la présence d'une activité dénitrifiante dans ces boues. Dans ces mélanges, les efficacités de différentes sources de carbone/énergie pour les bactéries ont été évaluées selon trois scénarios [scénario 1 : carbone organique (méthanol, éthanol, bois intact (BI) et bois pourri (BP)) ; scénario 2 : carbone minéral ( $\text{SCN}^-$ ) ; et scénario 3 :  $\text{N-NH}_3$  comme source d'énergie (Anammox)]. Le BI et le BP utilisés dans cette étude ont été caractérisés dans les travaux de Bouslimi et al. (2013) et Bouslimi et al. (2014). Par la suite, les essais en batch ont été conduits en fed-batch (semi-continu) afin d'évaluer l'efficacité de dénitrification avec les différentes sources de carbone/énergie utilisées. Dans la troisième étape, la performance d'un système pilote de laboratoire de nitrification-dénitrification avec écoulement de l'effluent de la mine LaRonde et de leurs boues a été évaluée.

Ce chapitre présente la réalisation des montages et le suivi des paramètres physico-chimiques de la partie batch et fed-batch ainsi que la partie avec écoulement. D'autres détails sur la réalisation des essais sont fournis dans l'Annexe A pour les essais de batch et fed-batch et dans l'Annexe B pour les essais avec écoulement.

### 3.1 Description du site et échantillonnage

La boue utilisée pour tous les essais a été échantillonnée en une fois au fond du décanteur final à la sortie de l'usine de traitement biologique de la mine LaRonde (UTFE). Cette boue est susceptible de contenir des bactéries dotées d'une activité dénitrifiante anaérobie puisqu'elles sont situées au fond du décanteur (Figure 2-7). En effet, les conditions dans le fond du décanteur seraient favorables aux bactéries dénitrifiantes car la concentration d'oxygène devrait être relativement faible, avec la présence de source de carbone provenant de la mort des bactéries et la présence de  $\text{NO}_3^-$  à des concentrations d'environ 400 mg/L.

### 3.2 Essais batch et fed-batch

Le but de cette étape a été de déceler d’abord la présence de l’activité dénitrifiante des bactéries au moyen des essais en batch et, par la suite, de suivre la cinétique de dénitrification au moyen des essais fed-batch pour enfin comparer les efficacités des trois scénarios testés.

Au laboratoire, les 12 mélanges (S1 à S12) présentés dans le Tableau 3-1 ont été préparés selon les concentrations présentées dans le Tableau 3-2.

Tableau 3-1 : Caractéristiques des mélanges testés dans les essais batch et fed-batch

Bactéries	Scénario	Source d’énergie	Accepteur d’électrons	Mélange	Source de phosphore
Hétérotrophes	(1) : Carbone organique	BP	$\text{NO}_2^-$	S1	$\text{K}_2\text{HPO}_4$
			$\text{NO}_3^-$	S2	
		BI	$\text{NO}_2^-$	S3	
			$\text{NO}_3^-$	S4	
		Méthanol	$\text{NO}_2^-$	S5	
			$\text{NO}_3^-$	S6	
		Éthanol	$\text{NO}_2^-$	S7	
			$\text{NO}_3^-$	S8	
Autotrophes	(2) : Carbone minéral	$\text{SCN}^-$	$\text{NO}_2^-$	S9	
			$\text{NO}_3^-$	S10	
	(3) : Approche Anammox	$\text{N-NH}_3$	$\text{NO}_2^-$	S11	
			$\text{NO}_3^-$	S12	

L’accepteur d’électron a été changé pour chaque substrat afin de tester lequel entre  $\text{NO}_2^-$  et  $\text{NO}_3^-$  donne la meilleure efficacité. Par la suite, dans 12 erlenmeyers de 500 mL, 270 mL de chaque mélange ont été transvasés auxquels 30 mL des boues (partie solide) préalablement centrifugées ont été rajoutées.

Chaque erlenmeyer a subi un barbotage avec de l’azote gazeux, et a ensuite été scellé par un bouchon muni de 3 sorties : un pour l’alimentation, un pour l’échantillonnage et un troisième pour la sortie de gaz par dénivellation (déplacement du niveau de l’eau dans le cylindre gradué ; Figure 3-1). Les deux tuyaux d’alimentation et d’échantillonnage restaient pour l’étape batch bien bouchés. Ils servaient plus tard lors de l’étape fed-batch pour l’alimentation et le soutirage. Une faible agitation a été fournie par une plaque agitatrice sur laquelle les 12 erlenmeyers ont été bien

fixés. Les essais en batch et en fed-bach ont été réalisés à 20°C (dans une pièce à température contrôlée).

Tableau 3-2 : Réactifs et concentrations utilisés pour chaque mélange

Réactif	Concentrations visées (g/L)
$\text{Ca}(\text{NO}_3) \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$	0,4 de $\text{NO}_3^-$
$\text{KNO}_2$	0,4 de $\text{NO}_2^-$
$\text{NaSCN}$	0,4 de $\text{SCN}^-$
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	0,4 de $\text{NH}_4^+$
$\text{K}_2\text{HPO}_4$	0,018 de P
Méthanol $\text{CH}_4\text{O}$	6
Éthanol $\text{C}_2\text{H}_6\text{O}$	6
BI	8
BP	8

La fin de l'essai en batch a été déterminée par l'arrêt de production de gaz mesuré par dénivellation dans le cylindre gradué (Figure 3-1). Dans le cas étudié, après 25 jours, aucun changement dans les volumes de gaz produits n'a été enregistré. En conséquence, l'essai batch a été arrêté après 30 jours et l'essai fed-batch a commencé par la suite.

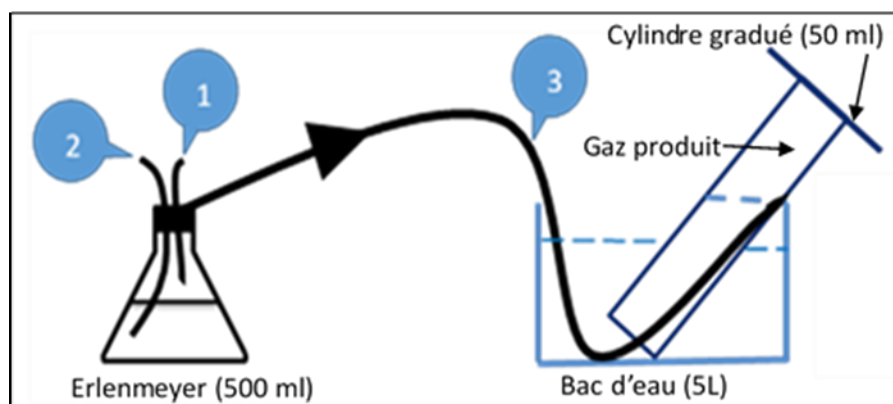


Figure 3-1: Schéma de la configuration du système de récupération par dénivellation du gaz produit dans les bioréacteurs

1 : Tuyau d'alimentation ; 2 : Tuyau d'échantillonnage ; 3 : Tuyau de sortie de gaz

Pour les essais en fed-batch (Figure 3-2), des échantillonnages d'un volume fixe de 50 mL à partir des mélanges réalisés ont été compensés par 50 mL du même mélange initial correspondant à ce réacteur [ex. pour le réacteur contenant ( $\text{SCN}^- + \text{NO}_3^-$ ), l'échantillonnage de 50 mL est compensé par 50 mL de la solution mère S10 (Tableau 3-1)]. La température durant ces essais était la même que pour les essais en batch ( $20^\circ\text{C}$ ). Il fallait s'assurer que durant l'alimentation et l'échantillonnage, aucune fuite d'air ne se produisait et que les erlenmeyers restaient étanches durant toute la durée de l'essai (30 jours).

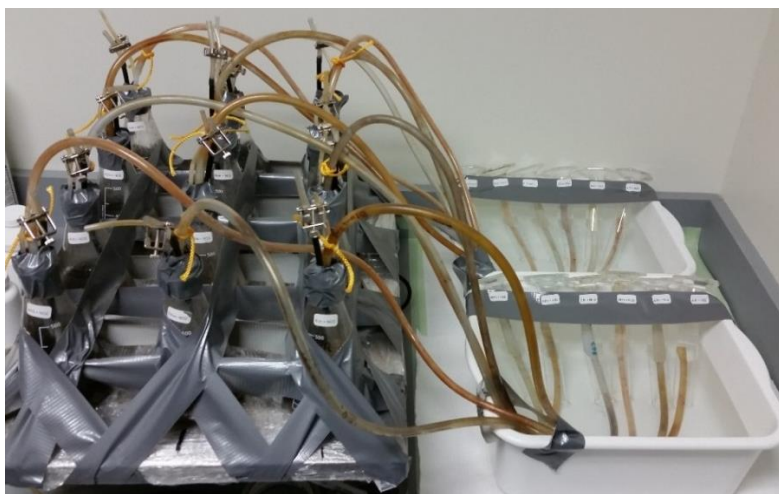


Figure 3-2: Photo du montage des essais en fed-batch

### 3.3 Pilote de nitrification-dénitrification

Un pilote de nitrification-dénitrification alimenté en continue par l'effluent réel de la mine LaRonde et consistant en 5 bacs en cascades de 20 L chaque (Figure 3-3), a été réalisé. L'alternance d'une étape pré-dénitrification par les  $\text{SCN}^-$  [bac (A) ; Figure 3-3], une nitrification [bac (B) à (D) ; Figure 3-3] et une post-dénitrification par le méthanol [bac (E) ; Figure 3-3] a assuré le traitement de la pollution azotée dans l'effluent. Le débit d'alimentation ( $Q_F$ ) et le débit de recirculation [ $Q_R$  : du bac (D) au bac (A)] ont été variés durant la période du suivi du pilote (140 jours) pour quatre facteurs de dilution différents ( $D_F$ ) dans le bac (A). La température n'a pas été contrôlée durant cette partie des travaux ( $15\text{-}20^\circ\text{C}$ ). Plus de détails expérimentaux sur la réalisation du montage et le suivi réalisé seront développés au chapitre 5 et à l'Annexe B.

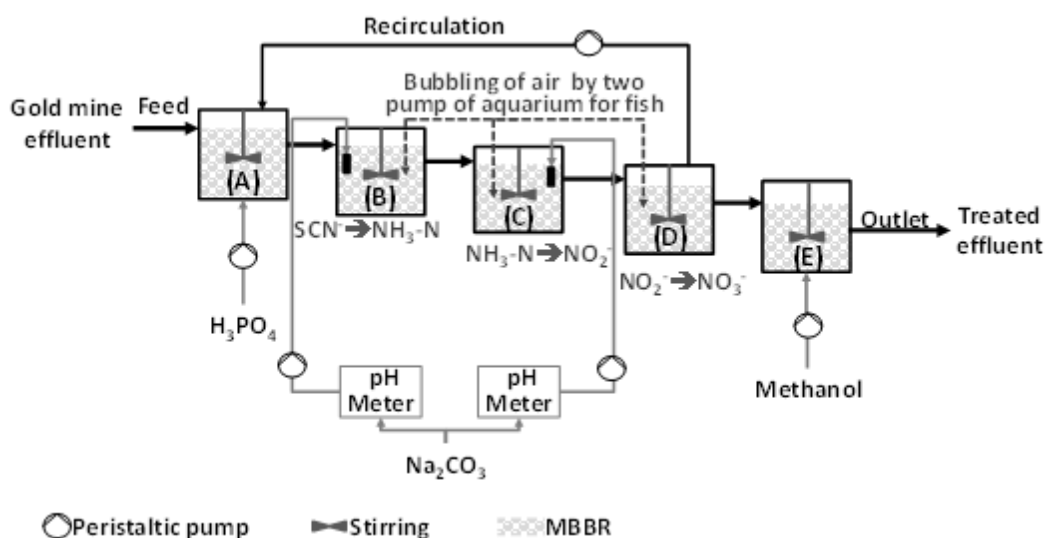


Figure 3-3 : Schéma du système pilote de traitement par nitrification-dénitrification

### 3.4 Suivi des essais en batch et fed-batch

Un suivi régulier des essais en batch et en fed-batch a été réalisé. Les paramètres mesurés étaient le pH, le potentiel d'oxydo-réduction (POR), OD, N-NH<sub>3</sub>, SCN<sup>-</sup>, NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>, le volume du gaz produit et sa composition. Les mesures de pH, POR et OD ont été effectuées par un multimètre HQ40d multi Hach muni de sondes spécifiques pour chaque mesure, respectivement, IntelliCAL™ pH PHC 101, IntelliCAL™ ORP-REDOX MTC 101 et Hach LDO 101. Pour la mesure de N-NH<sub>3</sub> le multimètre SympHony sp80pi a été utilisé muni de la sonde ORION Ammonia Electrode, spécifique du N-NH<sub>3</sub> gazeux (APHA, 2012). Les concentrations des anions (SCN<sup>-</sup>, NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>) ont été déterminées par chromatographie ionique (CEAEQ-MA.300, 2014). Le gaz produit a été caractérisé en termes de volume produit par lecture directe sur le système de récupération par dénivellation et de composition [N<sub>2</sub>, méthane (CH<sub>4</sub>) et dioxyde de carbone (CO<sub>2</sub>)] par chromatographie en phase gazeuse par un GC Agilent 686980N.

## CHAPITRE 4 RÉSULTATS DES ESSAIS BATCH ET FED-BATCH

Ce chapitre consiste en la présentation et l'interprétation des résultats obtenus lors des essais de laboratoire en batch et en fed-batch réalisés sur un effluent synthétique. Ces résultats sont appuyés par les bilans d'azote pour chaque mélange (Annexe C) ce qui permettra vers la fin de sélectionner les meilleurs scénarios de dénitrification possibles.

Le suivi de l'évolution de la dénitrification dans les mélanges évalués durant cette partie (S1 à S12) sera présenté par paramètre, en commençant par les paramètres physicochimiques (pH, POR et OD) et en continuant par l'évolution des concentrations des  $\text{SCN}^-$ ,  $\text{N-NH}_3$ ,  $\text{NO}_2^-$  et  $\text{NO}_3^-$ . La discussion débute par les mélanges utilisant les  $\text{SCN}^-$  comme source de carbone (S9 et S10), ensuite les mélanges utilisant l'approche Anammox (S11 et S12) seront interprétés, pour en finir les mélanges utilisant le carbone organique [BI (S1 et S2), BP (S3 et S4), méthanol (S5 et S6) et éthanol (S8 et S9)]. Par la suite, le gaz produit par chaque mélange sera caractérisé, en termes de volume et de composition. Enfin, une conclusion clôturera cette partie pour converger vers le(s) scénario(s) le(s) mieux adapté(s) pour des essais de nitrification-dénitrification à échelle pilote avec écoulement.

### 4.1 Suivi du pH, POR et OD

Les mesures de pH, POR et OD montrent que les conditions opératoires n'étaient pas les mêmes dans tous les réacteurs. Pour le pH (Figure 4-1), toutes les mesures étaient entre 6,8 et 8,6, ce qui est adéquat pour la dénitrification, sauf pour le mélange S8, qui a montré des mesures de pH légèrement plus faibles (5,8-7,1) néanmoins adéquates pour le déroulement de la dénitrification. Cela indique que la correction du pH lors de l'alimentation des réacteurs a été efficace pour tous les réacteurs, sauf pour le S8, qui a montré plusieurs valeurs de pH plus proches de l'acidité ( $\text{pH} < 7$ ).

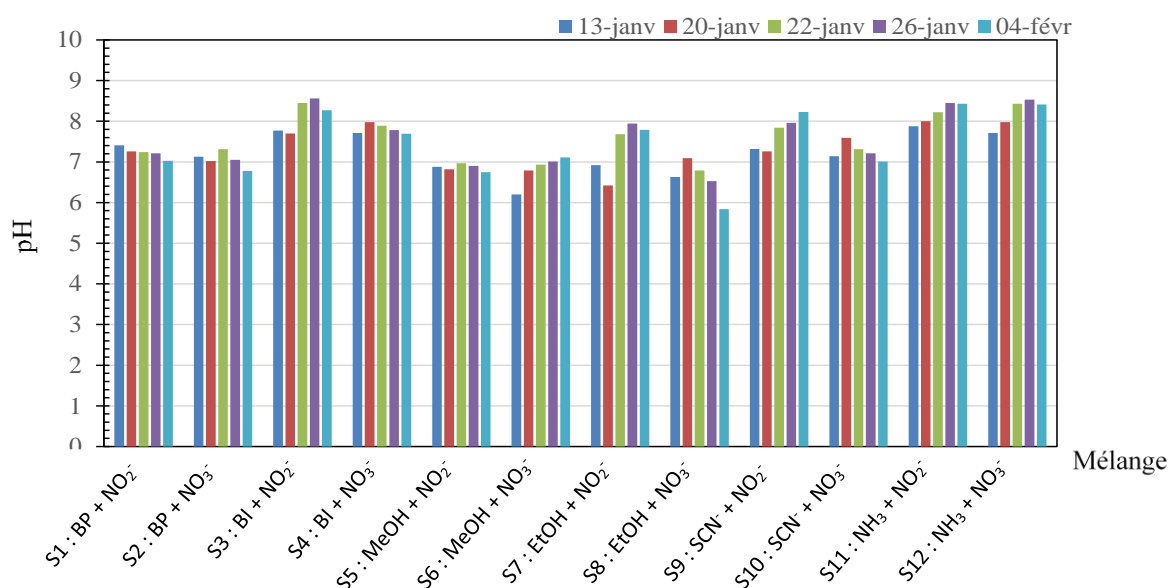


Figure 4-1: Variation du pH pour les mélanges testés en batch et en fed-batch

Pour le POR (Figure 4-2), les valeurs ont été négatives pour tous les mélanges, sauf S1 et S2 (en présence de BP) ou elles ont été supérieures à zéro. Ceci indique que pour les mélanges S3 à S12 les conditions réductrices ont été maintenues favorables pour la dénitrification.

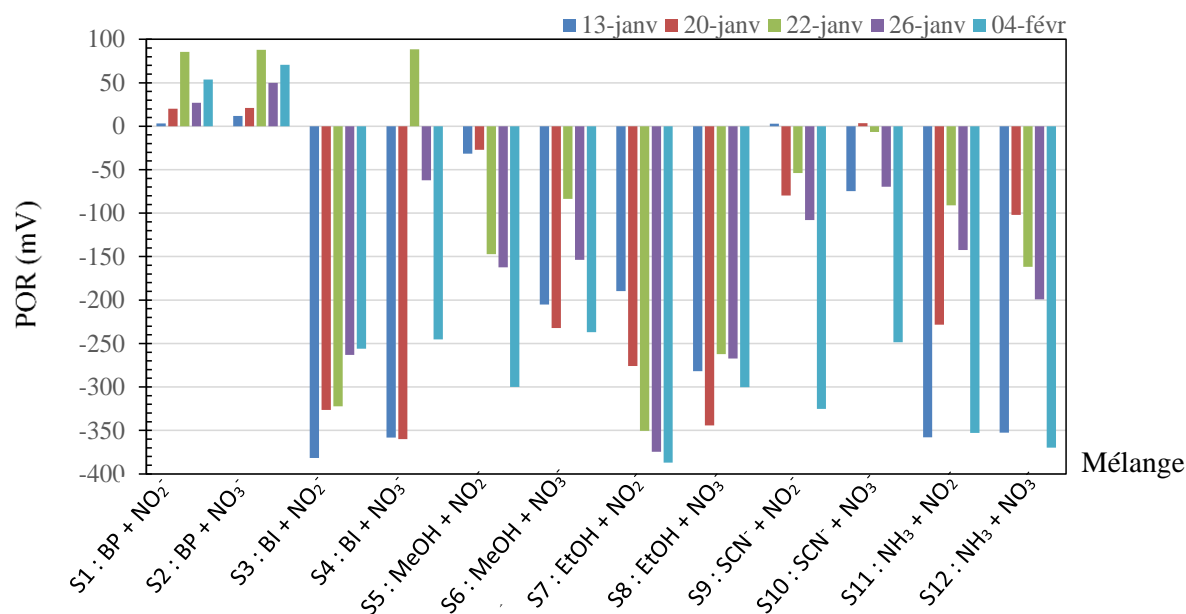


Figure 4-2: Variation du POR en fin de batch et de chaque cycle de fed-batch

Pour l'OD (Figure 4-3), les concentrations ont beaucoup varié d'un mélange à l'autre et leur maintien à des valeurs faibles a été difficile. Les valeurs les plus faibles ont été observées pour le mélange S3, avec une moyenne de  $1,0 \pm 0,3$  mg O<sub>2</sub>/L, ce qui est très favorable à la dénitrification. Par contre, les concentrations les moins favorables pour la dénitrification ont été observées pour les deux mélanges S1 et S2 ( $4,9 \pm 0,5$  et  $4,3 \pm 1,5$  mg O<sub>2</sub>/L, respectivement). Pour les autres mélanges, les concentrations en OD ont varié entre 1,2 et 1,8 mg O<sub>2</sub>/L. Ces résultats indiquent des conditions opératoires favorables à la dénitrification pour les mélanges S3-S8, S11 et S12. Pour les mélanges S9 et S10 (en présence des SCN<sup>-</sup>) l'OD était légèrement supérieur ( $3,1 \pm 1,6$  mg O<sub>2</sub>/L et  $2,8 \pm 1,1$  mg O<sub>2</sub>/L, respectivement), ce qui donnait des conditions moins favorables à la dénitrification. Enfin, les mélanges S1 et S2 ont été les moins favorables à la dénitrification, avec des POR positifs et des concentrations en OD supérieures à 4 mg/L, même si le pH moyen variait autour de 7,2. Par conséquent, ces résultats des essais préliminaires ont montré que le BP (mélanges S1 et S2) ne semble pas un bon choix pour la dénitrification.

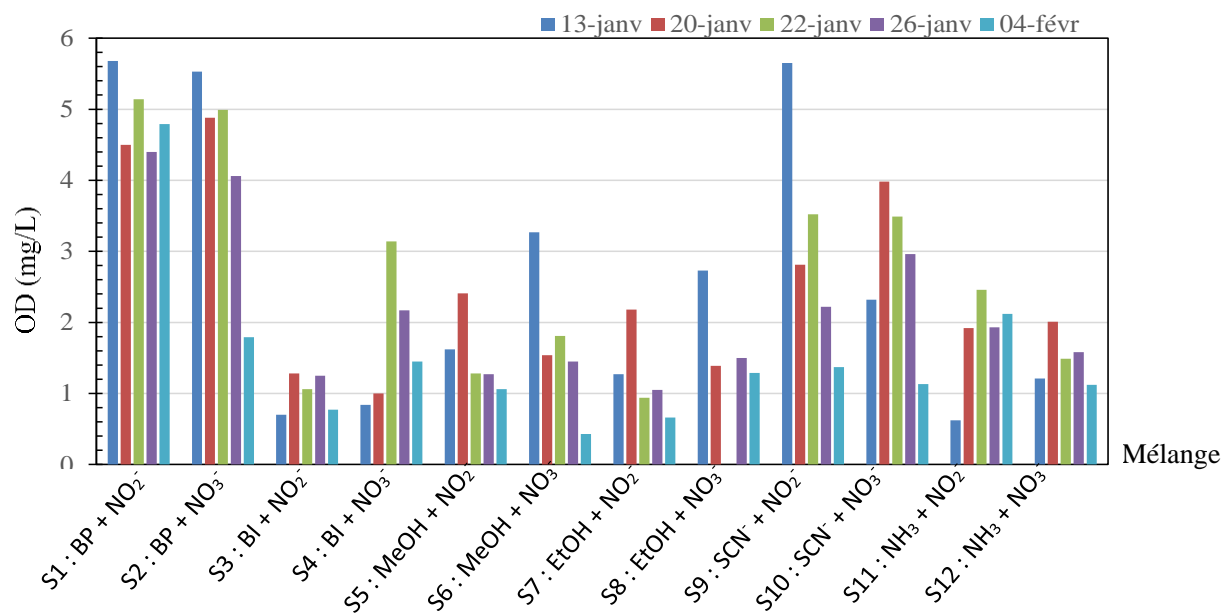


Figure 4-3: Variation de l'OD en fin de batch et de chaque cycle de fed-batch



## 4.2 Suivi des concentrations des $\text{SCN}^-$ , $\text{N-NH}_3$ , $\text{NO}_2^-$ et $\text{NO}_3^-$

### 4.2.1 Mélanges S9 ( $\text{SCN}^- + \text{NO}_2^-$ ) et S10 ( $\text{SCN}^- + \text{NO}_3^-$ )

Les valeurs de pH dans les mélanges S9 et S10 ont varié entre 7 et 8 et restaient donc adéquates pour l'enlèvement des  $\text{SCN}^-$  (Batil, 2013). En présence des  $\text{NO}_2^-$  comme accepteur d'électrons, les  $\text{SCN}^-$  à des concentrations initiales de 360 mg/L ont été complètement oxydés après 30 jours d'essai batch. Pour le mélange utilisant les  $\text{NO}_3^-$ , cette efficacité a été uniquement de 68% (Figure 4-4). Suite aux alimentations de fed-batch, le mélange S9 a maintenu son efficacité d'enlèvement des  $\text{SCN}^- >99\%$ , alors que le mélange S10 a présenté une plus faible efficacité d'enlèvement pour le 1<sup>er</sup> cycle du fed-batch avec (51%). Cette efficacité s'est améliorée par la suite pour atteindre  $>99\%$  en fin de l'essai fed-batch.

Ces résultats suggèrent que l'enlèvement des  $\text{SCN}^-$  par les  $\text{NO}_2^-$  est plus efficace que par les  $\text{NO}_3^-$ . Selon les travaux de Lay-Son et al. (2008), pour des temps de réaction supérieurs à 10 heures, l'enlèvement des  $\text{SCN}^-$  par voie biologique était efficace même pour des concentrations initiales de 500 mg/L. Cette discordance observée avec le  $\text{NO}_3^-$  comme accepteur d'électrons peut être expliquée par la différence de la température des essais dans les deux études, à savoir  $29 \pm 0,5^\circ\text{C}$  (Lay-Son et al., 2008) et  $20 \pm 0,5^\circ\text{C}$  (la présente étude). Par ailleurs, les voies par lesquelles les  $\text{SCN}^-$  ont été enlevés restent à déterminer. D'après la Figure 4-5, une partie des  $\text{SCN}^-$  a été oxydée en  $\text{N-NH}_3$  donnant une concentration finale de  $\text{N-NH}_3$  de 5 et 70 mg/L, respectivement, pour les mélanges S9 et S10. La Figure 4-6 quant à elle montre que les  $\text{NO}_3^-$  (mélange S10) ont été totalement enlevés. Pour le mélange S9, les  $\text{NO}_2^-$  ont été totalement dégradés, et les  $\text{NO}_3^-$  ont été produits (29 mg/L) en présence de l'OD (5,6 mg/L ; Figure 4-3).

Lay-Son et al. (2008) ont trouvé que les  $\text{SCN}^-$  ont un optimum d'enlèvement par voie biologique à des concentrations de  $\text{N-NH}_3$  inférieures à 1,5 mg/L. Cependant, selon les résultats de la présente étude, les  $\text{SCN}^-$  ont été enlevés presque au complet ( $>99\%$ ) en présence de  $\text{N-NH}_3$  excédant les 22 mg/L et allant jusqu'à 100 mg/L où les accepteurs d'électrons étaient les  $\text{NO}_2^-$ .

Ces résultats sont consistants avec ceux d'une étude antérieure (Kapoor et al., 2004), qui a montré que l'enlèvement des  $\text{SCN}^-$  était efficace ( $>99\%$ ) dans des réacteurs en fed-batch et à des

températures plus basses (12°C) relativement à la présente étude (20°C), mais à une concentration moins élevée en  $\text{SCN}^-$  (200 mg/L vs. 360mg/L).

Pour les mélanges S9 et S10, durant les essais fed-batch, les  $\text{NO}_2^-$  et les  $\text{NO}_3^-$  ont été enlevés à >99% et les concentrations de  $\text{N-NH}_3$  ont augmenté progressivement jusqu'à 26 mg/L et 108 mg/L, respectivement.

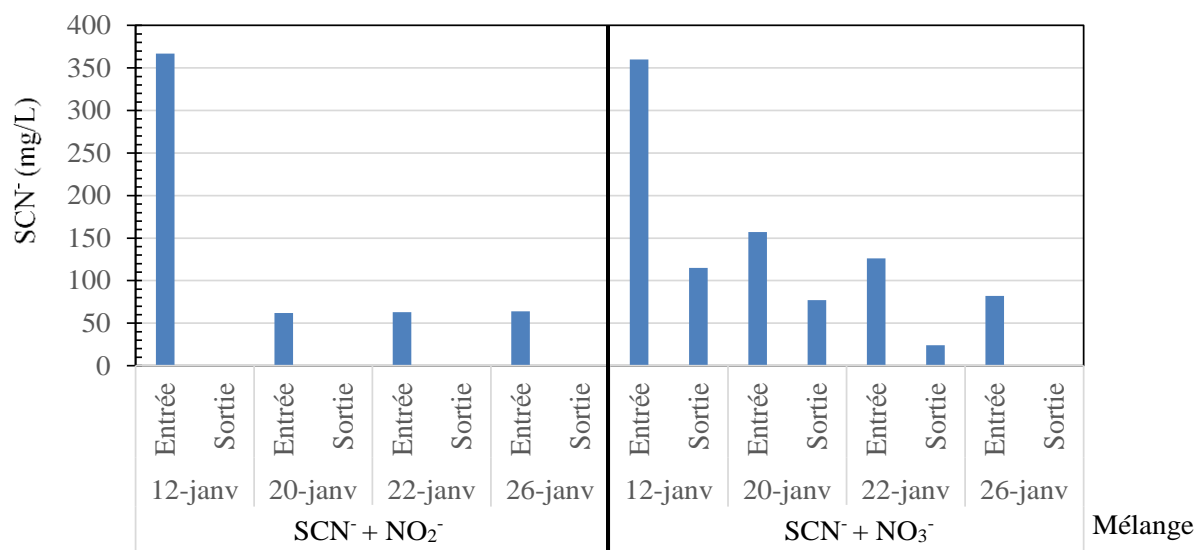


Figure 4-4: Variation de la concentration des  $\text{SCN}^-$  en batch et en fed-batch pour les mélanges ( $\text{SCN}^- + \text{NO}_2^-$ ) et ( $\text{SCN}^- + \text{NO}_3^-$ )

Selon le bilan d'azote (Annexe C) du batch contenant le mélange S9, le N total initialement à 387 mg N/L a diminué à 28 mg N/L, ce qui suggère que l'azote a été enlevé sous forme de  $\text{N}_2$  avec une efficacité de 93% (Figure 4-4, Figure 4-5 et Figure 4-6). De façon similaire, le N total du mélange S10 initialement à 523 mg-N/L a diminué à 101 mg-N/L pour une efficacité de dénitrification d'environ 81% en fin du batch. Ces résultats permettent de conclure que la dénitrification en batch utilisant les  $\text{NO}_2^-$  est plus efficace que celle utilisant les  $\text{NO}_3^-$ .

En fed-batch, en considérant que la solution d'alimentation ne contenait pas de  $\text{N-NH}_3$ , d'après le bilan d'azote (Annexe C), l'efficacité d'enlèvement des formes azotées en solution dans le mélange S9 a diminué d'un cycle fed-batch à l'autre, pour passer de 81% dans le 1<sup>er</sup> à 43%, en fin de l'essai. Pour le mélange S10, aucune efficacité de dénitrification n'a été détectée. Ces résultats indiquent

que l'accumulation des  $\text{N-NH}_3$  en solution à des concentrations d'environ 100 mg/L sont à l'origine de l'inhibition de l'activité bactérienne.

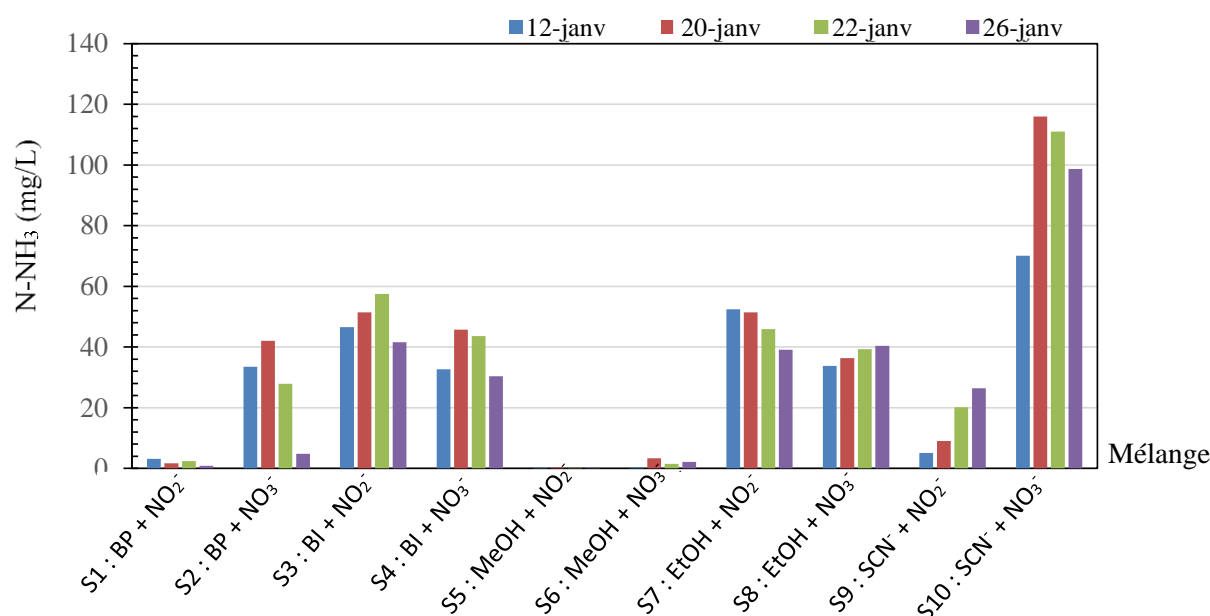


Figure 4-5: Variation de la concentration de  $\text{N-NH}_3$  en batch et en fed-batch pour les mélanges non alimentés avec le  $\text{N-NH}_3$

Des études précédentes ont montré que la dégradation des  $\text{SCN}^-$  à de fortes concentrations a été affectée par le  $\text{N-NH}_3$  à partir 1,5 mg/L causant ainsi une diminution de l'efficacité de traitement (Lay-Son et al., 2008). À titre comparatif, des essais de dénitrification effectués par Kim et al. (2012) en utilisant les  $\text{SCN}^-$  dans un réacteur de 8 L (vs. 1,3 L) en continu et avec recirculation (vs. batch et fed-batch), à une température de 33-34°C (vs. 20°C) et une concentration en OD de 0,3 mg/L (vs. 1 à 4 mg/L dans cette étude), ont permis d'obtenir les meilleures efficacités d'enlèvement des composés azotés n'excédant pas 73%, restant inférieures à la meilleure efficacité dans la présente étude (81%), malgré les conditions moins favorables. Cependant, la configuration différente des réacteurs utilisés dans les deux études fait en sorte que la comparaison directe ne permet pas de tirer une conclusion nette. Ce qui est à retenir est que la dénitrification utilisant les  $\text{SCN}^-$  est possible et que l'efficacité est liée aux conditions opératoires et à la configuration du réacteur.

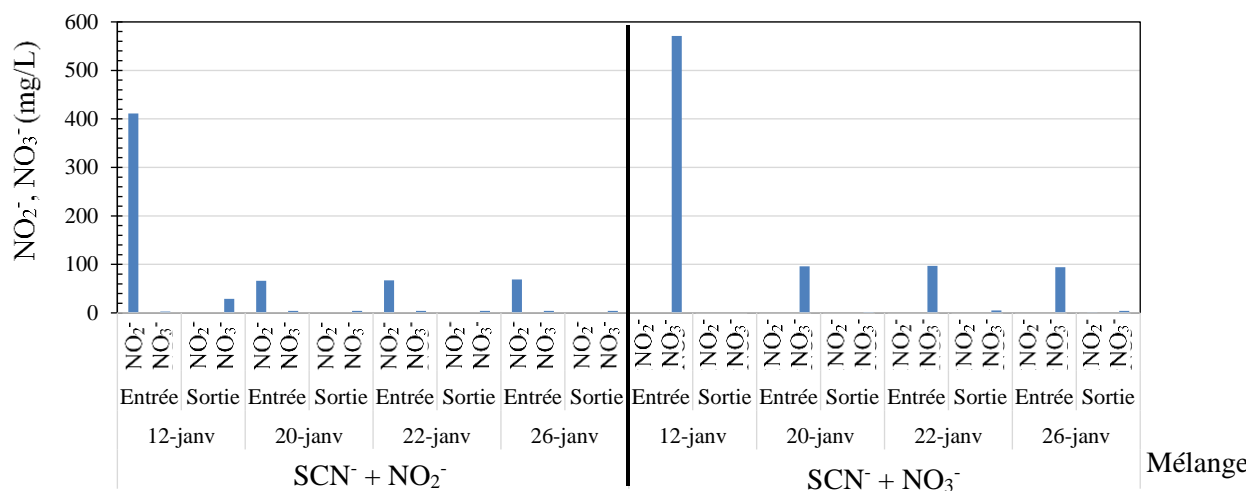


Figure 4-6: Évolution de la concentration des NO<sub>2</sub><sup>-</sup> et des NO<sub>3</sub><sup>-</sup> dans les mélanges S9 et S10 utilisant les SCN<sup>-</sup> comme source d'énergie en batch et en fed-batch

Enfin, d'après ces résultats, la dénitrification utilisant les SCN<sup>-</sup> comme source de carbone minéral semble être plus efficace avec les NO<sub>2</sub><sup>-</sup> qu'avec les NO<sub>3</sub><sup>-</sup> où l'accumulation de l'azote sous forme de N-NH<sub>3</sub> a été à l'origine de l'inhibition de dénitrification.

#### 4.2.2 Mélanges S11 (N-NH<sub>3</sub> + NO<sub>2</sub><sup>-</sup>) et S12 (N-NH<sub>3</sub> + NO<sub>3</sub><sup>-</sup>)

À la fin de l'essai en batch, les mélanges S11 et S12 ont enregistré des concentrations de N-NH<sub>3</sub> de 103 et 99 mg/L avec 85 et 77% en efficacité d'enlèvement de N-NH<sub>3</sub>, respectivement (Figure 4-7). En fed-batch, la tendance des efficacités n'a pas changé : le mélange S11 a toujours enregistré une certaine efficacité d'enlèvement des N-NH<sub>3</sub> pour les deux premiers cycles de fed-batch, moindre que l'efficacité du batch (8 et 15%), alors que le mélange S12 a montré une accumulation en N-NH<sub>3</sub> de cycle en cycle de fed-batch. Ceci pourrait être expliqué par la production potentielle de la réaction Anammox qui est assurée par des bactéries qui ont une préférence aux NO<sub>2</sub><sup>-</sup> plus qu'aux NO<sub>3</sub><sup>-</sup>. De plus, la cinétique de la réaction Anammox est plus élevée pour des températures supérieures à 20°C (Dapena-Mora et al., 2004 ; Lotti et al., 2014).

La Figure 4-8 montre que l'enlèvement des NO<sub>2</sub><sup>-</sup> et des NO<sub>3</sub><sup>-</sup> a été efficace à >99% pour les deux mélanges testés en batch. Cette efficacité a été légèrement diminuée en fed-batch pour les NO<sub>3</sub><sup>-</sup> qui restaient à 6 ± 1 mg/L pour S11 et s'accumulaient pour atteindre 34 mg/L en fin de l'essai pour

S12. Ceci explique aussi l'inhibition du processus par l'accumulation des  $\text{N-NH}_3$  dans le mélange S12 résultant en une faible cinétique de dénitrification.

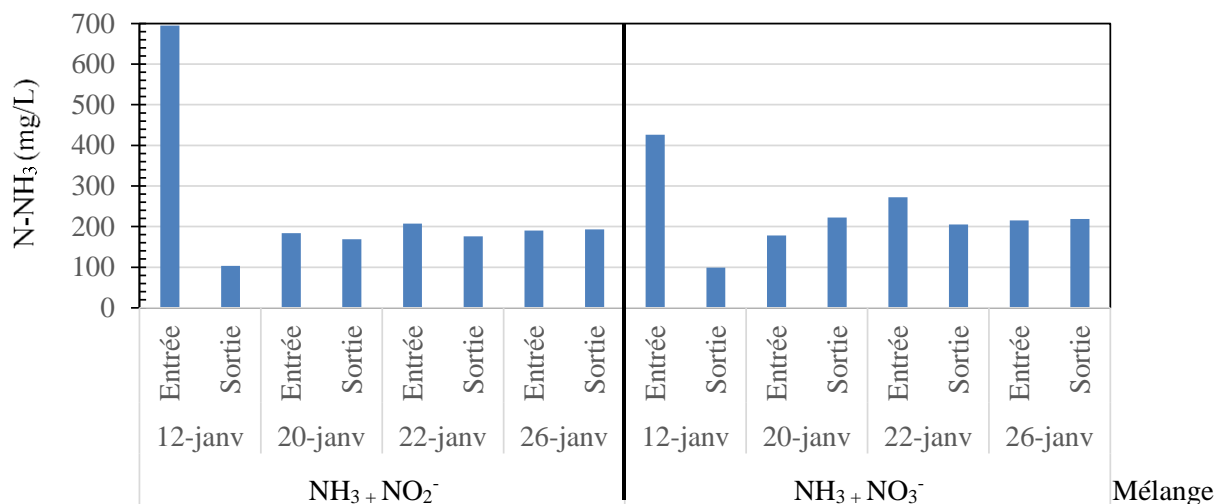


Figure 4-7: Évolution de la concentration de  $\text{N-NH}_3$  dans les mélanges S11 et S12 utilisant le  $\text{N-NH}_3$  comme source d'énergie en batch et en fed-batch

D'après le bilan d'azote, l'efficacité de dénitrification est similaire pour les deux mélanges S11 et S12. En batch, l'enlèvement des composés azotés était de 77% (S11) et de 83% (S12). Cette efficacité a diminué par la suite pour les deux mélanges et restait instable à 20-45% (S11), et à 11-40% (S12). Dans ce cas, il est difficile de trancher entre le meilleur des deux accepteurs d'électrons ( $\text{NO}_2^-$  ou  $\text{NO}_3^-$ ) pour l'enlèvement des composés azotés. Cependant, en se référant aux concentrations des  $\text{N-NH}_3$ , les  $\text{NO}_2^-$  semblent être plus efficaces que les  $\text{NO}_3^-$ .

À titre comparatif, dans une étude antérieure (Lotti et al., 2014) des concentrations initiales de 60 à 160 mg N/L ont été traitées dans un réacteur fed-batch à échelle de laboratoire, à température entre 10 et 20°C, ce qui est comparable avec la présente étude. L'efficacité de dénitrification a été de 75-85% à 20°C dans le meilleur des cas, ce qui est semblable aux efficacités calculées pour les mélanges S11 et S12. Cette efficacité a diminué progressivement en dessous de 20°C. Une autre étude (Dapena-Mora et al., 2004) réalisée en fed-batch et visant la dénitrification Anammox à 30°C, avec un réajustement automatique du pH entre 7,8 et 8 et une faible agitation de 70 rpm pendant 6 h, a permis d'atteindre une efficacité de dénitrification de 78% alors que tous les  $\text{NO}_2^-$  étaient consommés. Ces résultats sont consistants avec ceux trouvés dans la présente étude réalisée

à une température de 20°C. Une meilleure efficacité de dénitrification (90%) a été atteinte dans les travaux de Hu et al. (2013) bien que la température appliquée lors des essais était de 12°C. Enfin, Zaho et al. (2014) se sont proposés de dénitrifier un effluent ayant une charge initiale de 1500 mg-N/L à une charge volumique variant entre 10 et 20 mg-N/m<sup>3</sup>/jr. La meilleure efficacité de dénitrification a atteint 88%, consistante avec les résultats obtenus à l'issu du cycle de batch de la présente étude.

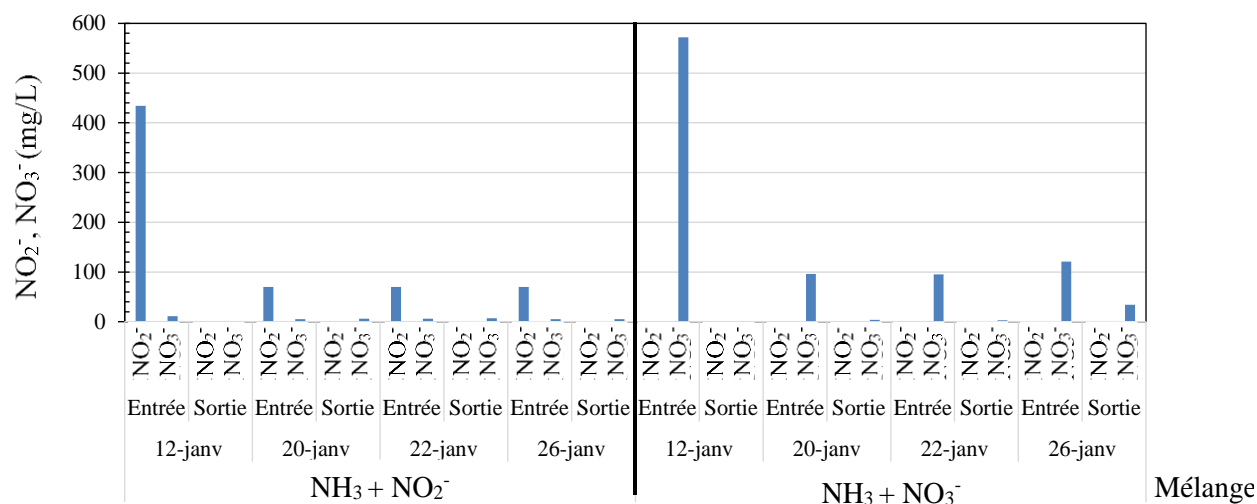


Figure 4-8: Évolution de la concentration des NO<sub>2</sub><sup>-</sup> et des NO<sub>3</sub><sup>-</sup> dans les mélanges S11 et S12 utilisant les N-NH<sub>3</sub> comme source d'énergie en batch et en fed-batch

#### 4.2.3 Mélanges S1 (BP + NO<sub>2</sub><sup>-</sup>) et S2 (BP + NO<sub>3</sub><sup>-</sup>)

La Figure 4-9 montre que l'enlèvement des NO<sub>2</sub><sup>-</sup> du mélange S1 est efficace à plus de 99%, mais elle est accompagnée par une légère accumulation des NO<sub>3</sub><sup>-</sup> de 6 à 9 mg/L, ce qui est expliqué par la nitratisation étant donné les valeurs de POR de ce mélange, supérieures à zéro ( $38 \pm 32$  mV ; Figure 4-2), et de l'OD ( $4,9 \pm 0,5$  mg/L). Pour le mélange S2, l'enlèvement des NO<sub>3</sub><sup>-</sup> en batch a été efficace à plus de 99% avec une concentration résiduelle de 7 mg/L. En contrepartie, des concentrations en N-NH<sub>3</sub> de 33 mg/L (S2) et de 3 mg/L (S1) ont été trouvées (Figure 4-5). Ces résultats pourraient être expliqués par la lyse bactérienne, qui génère du N-NH<sub>3</sub>, et par la solubilisation des N-NH<sub>3</sub> contenus dans le bois.

En fed-batch, l'efficacité d'enlèvement des  $\text{NO}_3^-$  par le mélange S2 a diminué de 94%, lors du 1<sup>er</sup> cycle de fed-batch, à 81%, en dernier cycle, à cause des conditions opératoires non favorables pour la dénitrification [POR >0 mV (Figure 4-2), OD >4 mg/L (Figure 4-3)]. Pour le mélange S1, une accumulation en  $\text{NO}_3^-$  a été enregistrée ce qui est expliqué par l'oxydation des  $\text{NO}_2^-$  en  $\text{NO}_3^-$  via la nitratisation. Selon les paramètres physicochimiques (POR et OD), ces deux mélanges ont des conditions moins favorables que les autres mélanges pour traiter les composés azotés et dénitrifier l'effluent.

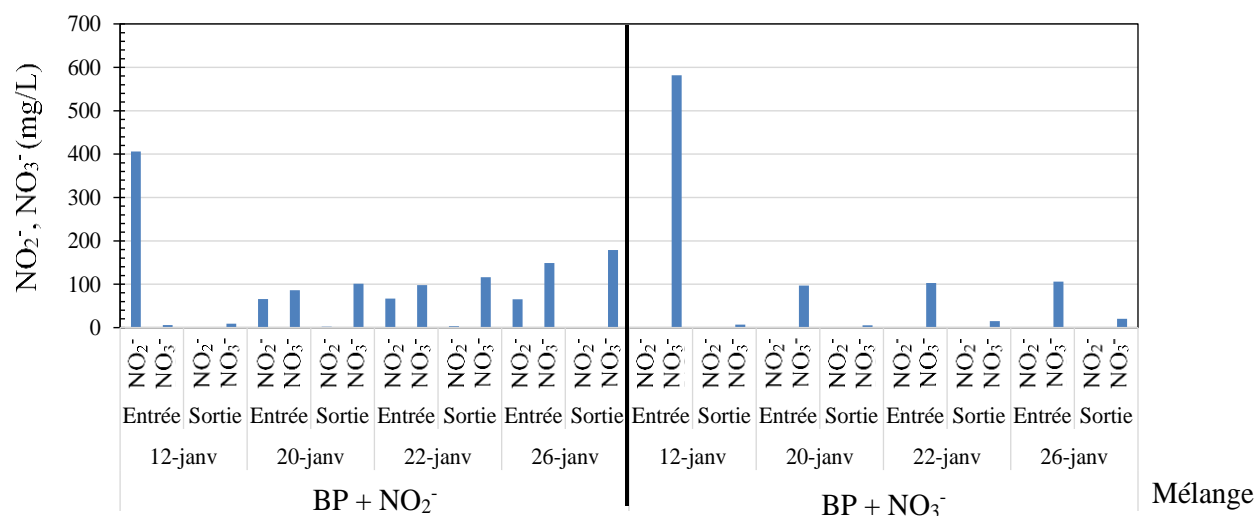


Figure 4-9: Évolution de la concentration des  $\text{NO}_2^-$  et des  $\text{NO}_3^-$  dans les mélanges S1 et S2 utilisant le BP comme source d'énergie en batch et en fed-batch

D'après le bilan d'azote, les efficacités de dénitrification ont été de 96% et 91% pour les essais batch des mélanges S1 et S2, respectivement. Ensuite, en fed-batch, ces efficacités ont diminué rapidement dans le mélange S1 pour atteindre une efficacité de à 13% à 28%. En ce qui concerne le mélange S2, l'efficacité a diminué brutalement à 40% puis elle a remonté progressivement pour atteindre 75% à la fin de l'essai. Ceci est expliqué par la possibilité d'une dénitrification en conditions aérobie, puisque les concentrations d'OD ont été de  $4,3 \pm 1,5$  mg/L et de  $4,9 \pm 0,5$  mg/L, respectivement, pour S2 et S1. En effet, ceci représente une voie métabolique qui n'est pas très connue à présent, mais qui est favorisée en présence des  $\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$  en conditions aérobies dans un réacteur bien mélangé et où les bactéries impliquées sont hétérotrophes (Ahn 2006).

#### 4.2.4 Mélanges S3 (BI + NO<sub>2</sub><sup>-</sup>) et S4 (BI + NO<sub>3</sub><sup>-</sup>)

Les conditions réductrices (POR < 0 mV) dans ces deux mélanges ont été maintenues contrairement aux mélanges S1 et S2 menés avec le BP. De plus, la concentration en OD pour les deux mélanges S4 et S3 était favorable pour la dénitrification avec  $1,0 \pm 0,3$  et  $1,7 \pm 0,9$  mg/L, respectivement.

En batch, les deux mélanges S3 et S4 présentaient une très bonne efficacité d'enlèvement des accepteurs d'électrons respectifs (Figure 4-10). L'enlèvement des NO<sub>2</sub><sup>-</sup> dans le mélange S3 a été presque total et l'enlèvement des NO<sub>3</sub><sup>-</sup> dans le mélange S4 a été supérieur à 99%. Cependant, le mélange S3 a montré une légère accumulation en NO<sub>3</sub><sup>-</sup> de 7 mg/L en fin du batch, ce qui est à l'origine de l'oxydation des NO<sub>2</sub><sup>-</sup>. Une concentration importante de N-NH<sub>3</sub> a été mesurée pour les deux mélanges de 47 et 32 mg/L, respectivement (Figure 4-5). La provenance du N-NH<sub>3</sub> est expliquée par la dissolution de l'azote contenue naturellement dans le bois.

En fed-batch, l'efficacité d'enlèvement des NO<sub>3</sub><sup>-</sup> est demeurée supérieure à 99% (pour le mélange S4), alors que pour le mélange S3, une accumulation progressive a été enregistrée allant de 7 mg/L à 20 mg/L. Pour les concentrations en N-NH<sub>3</sub>, les variations étaient légères pour les deux mélanges et les valeurs étaient à  $49 \pm 7$  et de  $38 \pm 8$  mg/L, respectivement, pour S3 et S4.

Selon le bilan d'azote en batch sur les deux mélanges S3 et S4, l'efficacité de dénitrification était de 82% et 92%, respectivement. Par la suite, en fed-batch, le mélange S3 a enregistré des accumulations en termes d'azote total passant de 12% à 23% en début des essais. C'est uniquement vers la fin du fed-batch qu'une faible efficacité de dénitrification a été enregistrée à une valeur de 6%. Pour ce qui concerne le mélange S4, l'efficacité de dénitrification a chuté de 92% en fin du batch à 24 % début du fed-batch, puis elle a continué à augmenter pour atteindre 53% vers la fin des essais.

La dénitrification utilisant le BI ou le BP (mélanges S1 à S4) semble plus efficace avec les NO<sub>3</sub><sup>-</sup> qu'avec les NO<sub>2</sub><sup>-</sup>. En effet, les bactéries hétérotrophes dénitrifiantes utilisent les NO<sub>3</sub><sup>-</sup> comme accepteur préférentielle des électrons plus que les NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, qui, généralement, nécessitent d'être oxydés en NO<sub>3</sub><sup>-</sup> avant. Cette étape supplémentaire nécessite plus de temps surtout dans des conditions de faibles concentrations en OD et POR négatif, ce qui engendre une efficacité faible et retardée pour la dénitrification (cas des mélanges S3 et S4 en fed-batch).



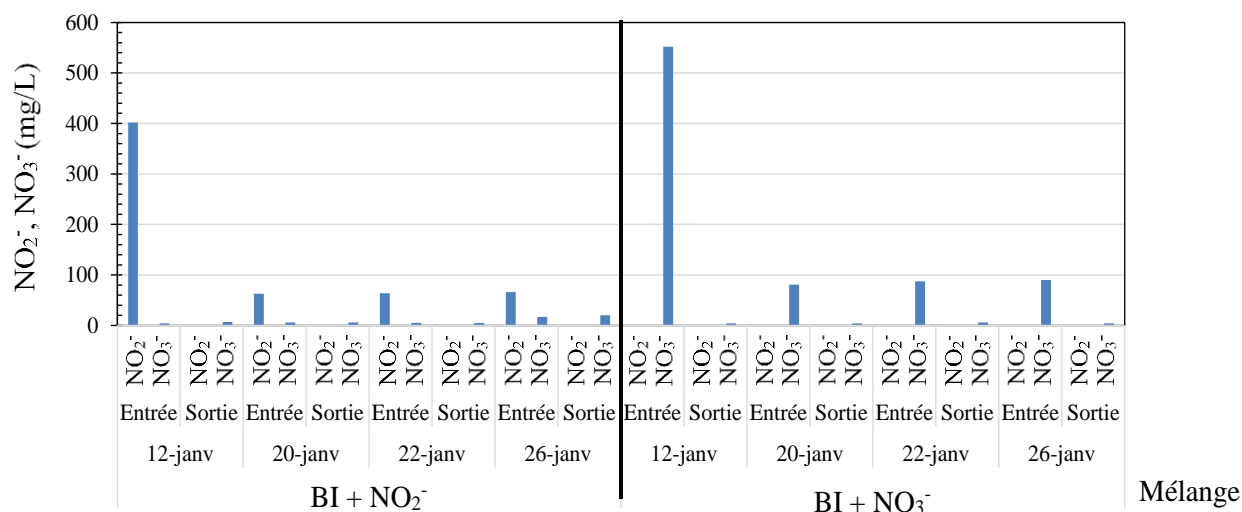


Figure 4-10: Évolution de la concentration des NO<sub>2</sub><sup>-</sup> et des NO<sub>3</sub><sup>-</sup> dans les mélanges S3 et S4 utilisant le BI comme source d'énergie en batch et en fed-batch

Comparativement à d'autres travaux de recherche, le BI ou le BP n'ont pas été utilisés directement comme source de carbone pour la dénitrification. Des molécules plus simples comme l'acétate, le glucose, le sucrose etc. ont été testées et donnaient des efficacités de dénitrification allant de 63 à plus de 99% (Ruiz et al., 2006 ; Sumino et al., 2006 ; Clauwere et al., 2007 ; Beristain-Cardoso et al., 2008 ; Li et al., 2008 ; Chen et al., 2009 ; Shen et al., 2009). Une recherche de Canto et al. (2008) a utilisé la cellulose, le composé majeur du bois, mélangé avec du sucrose, de la viande, de l'extrait de soja et de l'huile pour la dénitrification. Bien que la température fût de 30°C, l'efficacité de dénitrification a été d'environ 40% pour une concentration initiale de N-NH<sub>3</sub> de 50 mg/L. Ces résultats restent moins intéressants que ceux trouvés dans la présente étude pour les mélanges S2, S3 et S4.

#### 4.2.5 Mélanges S5 (MeOH + NO<sub>2</sub><sup>-</sup>) et S6 (MeOH + NO<sub>3</sub><sup>-</sup>)

Pour les mélanges utilisant le méthanol comme source de carbone organique par les bactéries hétérotrophes en vue de la dénitrification, les valeurs du pH des deux mélanges S5 et S6 étaient rapprochées soit autour de 6,9 et 6,8 respectivement. Le POR dans les deux mélanges a été maintenu en dessous de zéro et la concentration en OD présentaient des moyennes de 1,5 et 1,7 mg/L respectivement. En conclusion, les conditions opératoires étaient idéales pour la

dénitrification. La Figure 4-11 montre une excellente efficacité dans l'enlèvement des  $\text{NO}_2^-$  et des  $\text{NO}_3^-$  par les deux mélanges en fin du cycle batch. La Figure 4-5 montre une très faible concentration en  $\text{N-NH}_3$  dans ces deux mélanges qui sont de 0,2 et de 0,3 mg/L, respectivement, pour S5 et S6. Ces résultats témoignent de l'efficacité du méthanol comme source de carbone utilisée par les bactéries pour enlever la pollution azotée en batch.

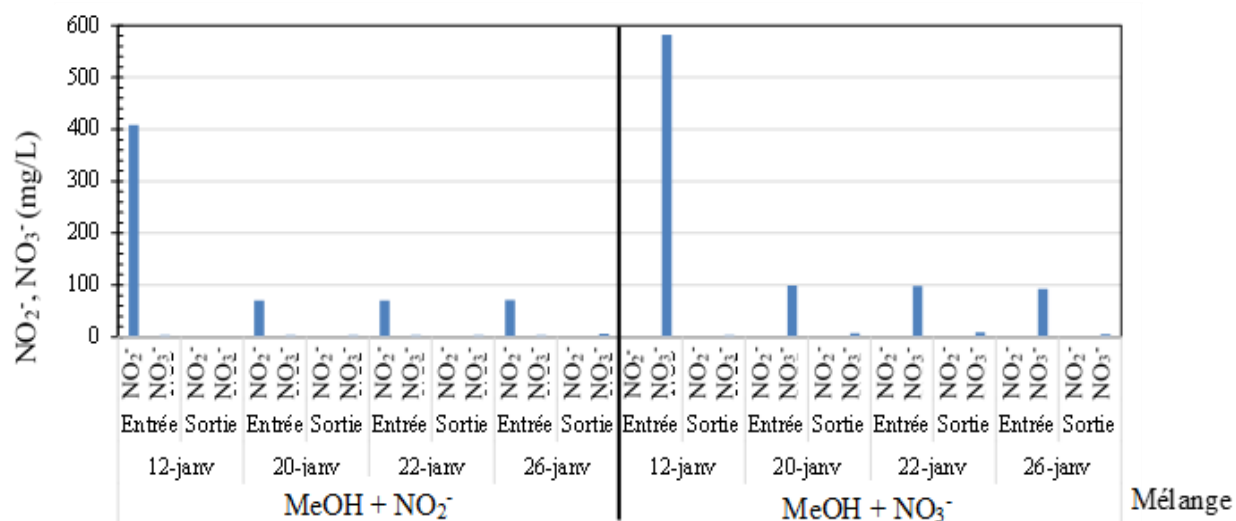


Figure 4-11: Évolution de la concentration des  $\text{NO}_2^-$  et des  $\text{NO}_3^-$  dans les mélanges S5 et S6 utilisant le méthanol comme source d'énergie en batch et en fed-batch

En fed-batch, l'efficacité d'enlèvement des  $\text{NO}_2^-$  a été >99% pour le mélange S5, accompagnée par une légère augmentation dans la concentration des  $\text{NO}_3^-$  due à la nitratisation. De plus, la concentration en  $\text{N-NH}_3$  pour ce mélange ne dépassait pas les 0,4 mg/L, ce qui indique un très bon traitement de la pollution azotée. Pour le mélange S6, les  $\text{NO}_3^-$  ont été quasi-totalement enlevés avec une efficacité supérieure à 92% en moyenne. Par contre, une légère accumulation en  $\text{N-NH}_3$  a été enregistrée (4 mg/L) et celle-ci peut être expliquée par la lyse bactérienne qui pourrait survenir en cours des essais.

Selon le bilan d'azote sur les deux mélanges en batch et en fed-batch, la dénitrification a été quasi-totale avec des efficacités supérieures à 99% pour le batch dans les deux mélanges. Ce résultat confirme que le méthanol est un substrat prometteur pour la dénitrification. En fed-batch, ces efficacités ont été maintenues à 93% (S5) et à 89% (S6) et ce vers le début des essais. Par la suite, cette efficacité s'est encore améliorée de cycle en cycle pour atteindre 97% (S5) et 91% (S6).

Ces résultats confirment les conclusions précédemment mentionnées selon lesquelles le méthanol est un substrat de choix pour une meilleure efficacité de dénitrification.

#### 4.2.6 Mélanges S7 (EtOH + $\text{NO}_2^-$ ) et S8 (EtOH + $\text{NO}_3^-$ )

Les conditions physicochimiques lors de la dénitrification avec le méthanol n'ont pas été les mêmes avec le  $\text{NO}_2^-$  et le  $\text{NO}_3^-$ . En effet, le pH du mélange S7 a été approprié pour la dénitrification (7 -7,4) alors que pour le mélange S8 le pH a été autour de 6,6, ce qui est le moins favorable parmi tous les mélanges testés. La correction du pH adoptée dans cette étude n'a donc pas été efficace pour ce mélange. En ce qui concerne le POR et l'OD, les mesures pour les deux mélanges étaient similaires et demeuraient favorables à la dénitrification.

La Figure 4-12 montre une efficacité calculée par rapport à l'azote équivalent de 96% (mélange S7) et supérieure à 99% (mélange S8). Contrairement aux mélanges utilisant le méthanol, une concentration élevée de  $\text{N-NH}_3$  a été enregistrée en fin du batch, de 52 mg/L et 34 mg/L, respectivement, pour les mélanges S7 et S8. Ces concentrations relativement élevées pourraient être engendrées par la mort des bactéries.

Lors du fed-batch, l'efficacité d'enlèvement des  $\text{NO}_2^-$  dans le mélange S7 a été >99% et était accompagnée par une faible production de  $\text{NO}_3^-$  d'environ 3 mg/L. Pour le mélange S8, l'efficacité d'enlèvement des  $\text{NO}_3^-$  a été autour de 97% avec une concentration résiduelle d'environ 2 mg/L. De plus, les concentrations de  $\text{N-NH}_3$  dans le mélange S7 ont diminué pour atteindre une concentration finale de 39 mg/L, alors que le contraire a été observé avec le mélange S8 où ces concentrations augmentaient progressivement pour atteindre 40 mg/L. Ces variations peuvent être expliquées de la façon suivante : dans le mélange S7, la dénitrification Anammox qui utilise les  $\text{N-NH}_3$  et les  $\text{NO}_2^-$  a eu lieu se traduisant par la réduction des concentrations de  $\text{N-NH}_3$ . Dans le mélange S8, puisque la dénitrification utilisant l'éthanol est plus rapide que le processus Anammox (bactéries hétérotrophes vs. bactéries autotrophes), les bactéries hétérotrophes dégradent préférentiellement l'éthanol. Par la suite, les bactéries vont utiliser le  $\text{N-NH}_3$  pour le processus Anammox, ce qui nécessite plus de temps et explique donc l'accumulation du  $\text{N-NH}_3$  par la lyse bactérienne.

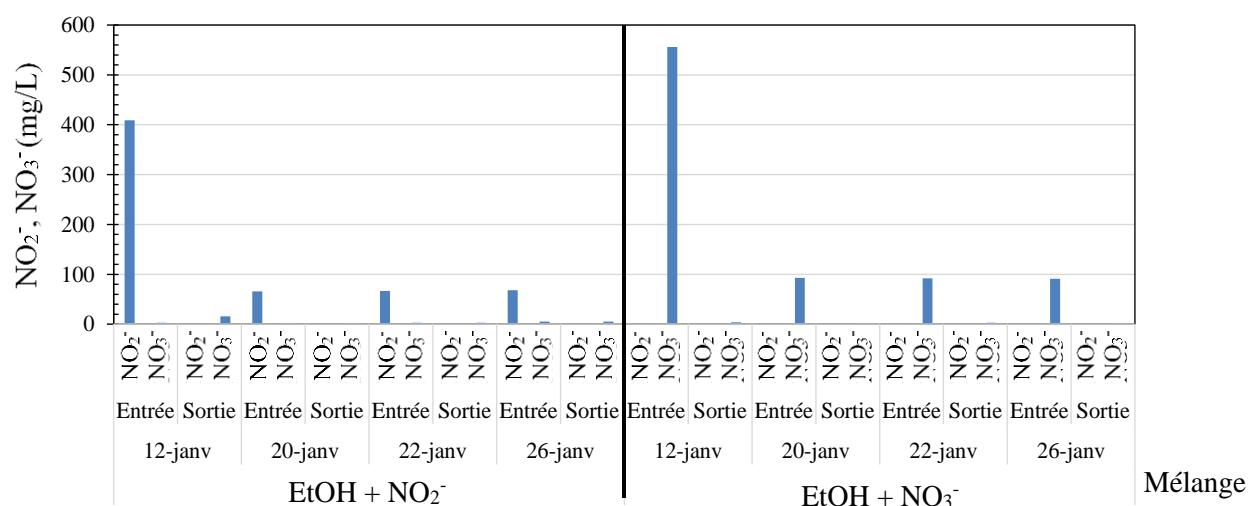


Figure 4-12: Évolution de la concentration des NO<sub>2</sub><sup>-</sup> et des NO<sub>3</sub><sup>-</sup> dans les mélanges S7 et S8 utilisant l'éthanol comme source d'énergie en batch et en fed-batch

Selon le bilan d'azote sur les deux mélanges en batch, les efficacités de dénitrification ont été de 78% et 92% pour S7 et S8, respectivement. Ces efficacités restent inférieures à celles obtenues par les essais avec le méthanol. En fed-batch, le mélange S7 a montré une accumulation de N total de 8%, en début des essais, et une efficacité de dénitrification de 5%. Le mélange S8 avait une efficacité un peu plus importante (18%) qui s'est améliorée à la fin des essais pour atteindre 42% tout en restant plus faible que celle obtenue avec le méthanol. En conclusion, l'utilisation du méthanol en batch et en fed-batch a été de loin plus efficace que l'utilisation de l'éthanol et ce, avec les deux anions testés (NO<sub>2</sub><sup>-</sup> et NO<sub>3</sub><sup>-</sup>).

#### Comparaison entre l'éthanol et le méthanol comme source de carbone pour la dénitrification

L'efficacité de dénitrification utilisant le méthanol versus l'éthanol est un sujet à débat entre les chercheurs. Certaines études montrent que le méthanol est plus efficace que l'éthanol (Morita et al., 2008) alors que d'autres prouvent le contraire (Zaitsev et al., 2008 ; Wang et al., 2009). Dans la présente étude, les résultats viennent appuyer l'hypothèse que le méthanol est plus efficace en dénitrification que l'éthanol. Ces résultats sont consistants avec ceux de Zaitsev et al. (2008) où l'efficacité de dénitrification avec le méthanol a été de 95% pour un système traitant un effluent à 4,1 mg de N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/m<sup>2</sup> support/jr. Selon Rusten et al. (1996) cette efficacité est plus faible si la température atteint 5°C même si la charge à traiter sera plus

faible (1 ou 2 mg de  $\text{N-NO}_3^-/\text{m}^2$  support/jr). Dans une étude de Wang et al. (2009) traitant un effluent chargé à 106 mg  $\text{N-NO}_3^-$ , l'efficacité de dénitrification a atteint plus que 99% à des températures entre 20-30°C. Ces résultats concordent avec ceux obtenus dans la présente étude. Cependant, la différence en efficacité de traitement pourrait être due à la différence en température (l'efficacité augmente avec la température). En contrepartie, les résultats obtenus sont contradictoires avec plusieurs études qui ont montré la bonne efficacité de dénitrification avec l'éthanol. Selon Morita et al. (2008), à des températures entre 22 et 29°C et à un pH de 7,9 à 8,4, l'efficacité maximale de dénitrification peut atteindre 98,4% avec un effluent initialement chargé à 17,6-108,4 mg/L de  $\text{N-NH}_3$ , 3,8-37,3 mg/L de  $\text{NO}_2^-$  et 0-26,6 mg/L de  $\text{NO}_3^-$ . Cette efficacité est plus importante que celle enregistrée dans l'étude actuelle avec le méthanol. Cependant, la température a été supérieure comparativement à celle utilisée dans la présente étude.

En conclusion, pour chaque effluent à traiter, il sera envisageable de faire des essais de dénitrification avec le méthanol et l'éthanol pour pouvoir trancher quant au meilleur substrat.

### **4.3 Suivi du gaz produit par les mélanges en batch et en fed-batch**

Les deux mélanges de  $\text{SCN}^-$  (S9 et S10) ainsi que le mélange de  $\text{BP}+\text{NO}_2^-$  (S1) n'ont produit aucun volume de gaz qui soit mesurable durant les essais en batch (Tableau 4-1). Les mélanges utilisant les alcools ont la meilleure production du gaz en volume avec 36 mL et 42 mL pour les mélanges S7 et S8 (avec l'éthanol) et des volumes supérieurs à 50 mL pour S5 et S6 (avec le méthanol), respectivement. Pour le scénario utilisant le bois comme source d'énergie, le meilleur volume produit a été obtenu avec le mélange S3 et S4 qui utilisaient le BI (33 mL et 39 mL, respectivement). Le plus faible volume a été produit avec le mélange utilisant le carbone organique issu du BP (S2) où le gaz produit était de 10 mL. L'approche utilisant le  $\text{N-NH}_3$  comme source d'énergie a été aussi intéressante en fin de batch par la production d'un volume de 32 mL pour S11 et 37 mL pour S12. L'analyse qualitative des gaz produits en fin de batch par GC a permis de montrer que le gaz majoritaire produit par tous les mélanges est le  $\text{N}_2$ , ce qui a permis de confirmer la dénitrification. Par ailleurs, pour les deux mélanges de méthanol, mis à part le  $\text{N}_2$ , l'analyse de la composition du gaz en fin des essais batch a permis d'identifier le  $\text{CH}_4$  qui témoigne d'une éventuelle méthanisation avec la dénitrification, ou aussi provenant de la volatilisation du méthanol.

Tableau 4-1 : Volume du gaz produit en fin de l'essai en batch

Mélange		Volume du gaz produit en fin du 1 <sup>er</sup> batch (mL)
S2	BP+ NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	10
S3	BI+ NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	33
S4	BI+ NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	39
S5	MeOH+ NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	50*
S6	MeOH+ NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	50*
S7	EtOH+ NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	36
S8	EtOH+ NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	42
S11	NH <sub>3</sub> + NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	32
S12	NH <sub>3</sub> + NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	37

\* Le volume produit >50 mL. Le cylindre gradué utilisé lors de cette mesure est limité à 50 mL.

L'évolution du gaz produit par les mélanges testés en fed-batch montre que le mélange S3 n'a produit aucun volume de gaz mesurable, ce qui vient confirmer les interprétations issues du bilan d'azote où il y avait accumulation des composés azotés dans ce mélange et inhibition de la dénitrification (Figure 4-13). Par contre, les deux mélanges S9 et S10 qui ne montraient aucun volume de gaz mesurable lors de l'essai batch, ont produit une réponse lors de l'essai en fed-batch. En effet, le mélange S9 a produit lors du 1<sup>er</sup> cycle de batch un volume de 34 mL qui correspond à une importante efficacité de dénitrification selon le bilan d'azote (81% d'enlèvement). L'analyse de la composition de ce gaz produit montre qu'il est majoritairement constitué de N<sub>2</sub> sauf pour le mélange S10 où le méthane a été aussi détecté indiquant ainsi une méthanisation dans le mélange en plus de la dénitrification. Par la suite, la production en gaz de ce mélange s'est arrêtée ce qui correspond à la baisse de l'efficacité de dénitrification comme calculée suivant le bilan d'azote précédemment mentionné.

Pour le mélange S10, les volumes produits ont été faibles et ne dépassaient pas les 6 mL avec une production non constante et interrompue. En termes de composition, le N<sub>2</sub> a été le gaz majoritaire pour ce mélange. Pour le mélange S11, les volumes de gaz produits ont été aussi interrompus au fil des cycles fed-batch. Pour le mélange S12, seul le dernier cycle de fed-batch a été accompagné par une faible production de gaz de 6 mL. Toutefois, le gaz majoritaire dans tous ces cas reste le N<sub>2</sub> témoignant de la dénitrification. Les mélanges S2, S4 et S7 ont aussi montré une production

fluctuante et non régulière en gaz d'un cycle à l'autre. En contrepartie, tout comme les mélanges S11 et S12, le gaz majoritaire reste le  $N_2$ .

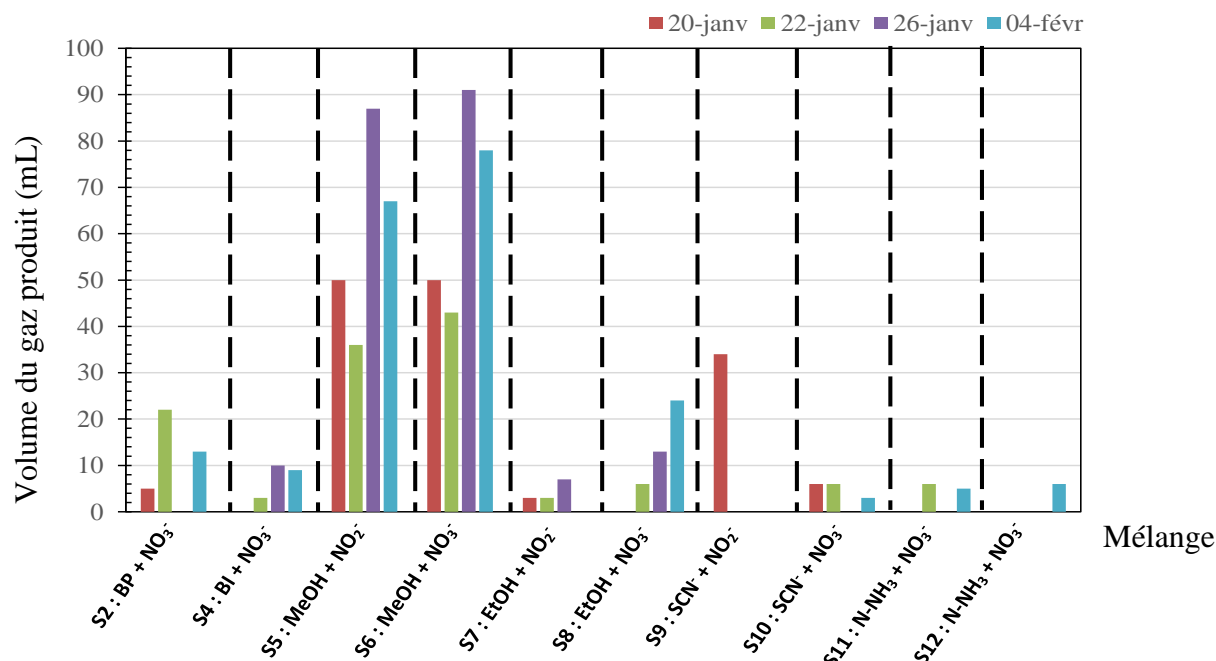


Figure 4-13 : Evolution des volumes de gaz produits lors des essais fed-batch

Pour le mélange S8, une production progressive en volume de gaz a été enregistrée allant de 6 mL en début des essais fed-batch à 24 mL vers la fin des essais. La composition du gaz était majoritairement du  $N_2$  sauf pour le dernier cycle fed-batch où le méthane a été détecté témoignant la présence d'une réaction de méthanisation. Pour les deux mélanges de méthanol S5 et S6, la meilleure production de gaz a été enregistrée bien qu'elle varie entre 36 mL et 87 mL pour S5 et entre 43 mL et 91 mL pour S6. Par contre, les gaz analysés dans tous ces volumes produits comprenaient pour le mélange S5 et S6 le  $N_2$ , le  $CH_4$  et le  $CO_2$ .

## 4.4 Stratégie à adopter pour la dénitrification avec écoulement en continu

Selon les résultats et les interprétations présentés précédemment, la dénitrification est possible avec tous les mélanges testés donnant différentes efficacités et différents volumes et compositions de gaz en fin de traitement (Tableau 4-2).

Tableau 4-2 : Évolution des efficacités de dénitrification et des volumes de gaz produits pour tous les essais en batch et en fed-batch.

Mélange	Essais	N total initial (mg/L)	N total final (mg/L)	Efficacité (%)	Gaz produit (mL)
SCN <sup>-</sup> + NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	Batch	386,88	23	94	-
	Fed-batch	62±9	25±13	60	34
SCN <sup>-</sup> + NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	Batch	523	101	81	-
	Fed-batch	105±10	120±17	-	5±2
N-NH <sub>3</sub> + NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	Batch	1016	103	90	32
	Fed-batch	270±50	184±12	32	6±1
N-NH <sub>3</sub> + NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	Batch	878	99	89	37
	Fed-batch	304±47	226±19	26	6
BP + NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	Batch	297	10	96	-
	Fed-batch	135±26	107±31	21	
BP + NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	Batch	460	39	91	30
	Fed-batch	81±4	36±13	56	13±9
BI + NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	Batch	293	52	82	33
	Fed-batch	54±6	58±3	-	-
BI + NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	Batch	436	36	92	39
	Fed-batch	68±4	44±9	36	7±4
MeOH + NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	Batch	297	< 1	>99	>50
	Fed-batch	54±0	23±1	95	60±22
MeOH + NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	Batch	460	3	>99	>50
	Fed-batch	76±2	8±1	89	66±23
EtOH + NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	Batch	270	65	78	36
	Fed-batch	51±2	48±5	5	4±2
EtOH + NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	Batch	439	37	92	42
	Fed-batch	73±1	40±2	44	14±9

L'utilisation du BI comme source d'énergie pour la dénitrification reste limitée par la solubilisation du carbone afin qu'il soit assimilable par les bactéries. L'utilisation du BP a amélioré considérablement cette efficacité (le bois est prédigéré par la carie) mais reste pourtant une



alternative non adéquate pour les industriels (apport de contamination et gestion supplémentaire des copeaux de bois). Pour la dénitrification visant l'approche Anammox (utilisant la  $\text{N-NH}_3$  comme source d'énergie), l'efficacité de dénitrification a été faible (32% et 26 % pour les mélanges avec  $\text{NO}_2^-$  et  $\text{NO}_3^-$  de fed-batch, respectivement ; Tableau 4-2). En effet, ce métabolisme a été plus efficace à des températures plus importantes que celle dans les essais réalisés (20°C). L'alternative de chauffage de l'eau impose une charge énergétique et économique qui est à considérer. L'approche utilisant les  $\text{SCN}^-$  comme source de carbone peut être intéressante dans ce cas d'étude puisqu'il est présent dans l'effluent de la mine d'or (LaRonde) et qu'il est un contaminant majeur qu'il faut traiter. De ce fait, l'utilisation de ce contaminant comme source de carbone permettant ainsi à la fois son enlèvement et la dénitrification est une alternative, sans doute, très intéressante pour les industries de l'or ayant ce contaminant dans leurs effluents. Pour l'alternative de la dénitrification par ajout d'alcool comme source de carbone, le méthanol a été de loin plus efficace que l'éthanol pour la dénitrification ( $\geq 89\%$  pour le méthanol dans tous les essais vs. 44% et 5%, pour l'éthanol avec le  $\text{NO}_3^-$  et le  $\text{NO}_2^-$  en fed-batch, respectivement). En termes de coût, le méthanol reste moins onéreux que l'éthanol et demeure une alternative pour combler la faible efficacité de dénitrification avec les  $\text{SCN}^-$  dans les essais à plus grande échelle.

En conclusion, cette partie des travaux a permis de choisir deux approches de dénitrification qui semblaient intéressantes à petite échelle, en vue de les tester à plus grande échelle et avec écoulement en continue sur un effluent réel. Ces deux approches sont les suivantes : (1) l'utilisation des  $\text{SCN}^-$  comme source de carbone minéral pour la dénitrification par les bactéries autotrophes et (2) l'utilisation du méthanol comme source de carbone organique pour la dénitrification par les bactéries hétérotrophes.

## **CHAPITRE 5     ARTICLE 1 : EFFICIENCY OF NITROGEN REMOVAL DURING THIOCYANATE TREATMENT IN GOLD MINE EFFLUENTS WITH MINERAL AND ORGANIC CARBON SOURCES**

Cette partie du mémoire est présentée sous forme d'un article scientifique soumis pour publication potentielle dans la revue *Process Biochemistry* (Voir l'Annexe D pour la preuve de soumission). Elle a pour objectif de valider dans un système pilote de traitement par nitrification-dénitrification avec écoulement en continu, les deux scénarios de dénitrification retenus à l'issue des essais batch et fed-batch (dénitrification autotrophe par les  $\text{SCN}^-$  et dénitrification hétérotrophe par le méthanol).

Rayen Tanabene<sup>a</sup>, Thomas Genty<sup>b</sup>, Carolina Gonzalez-Merchan<sup>a</sup>, Bruno Bussière<sup>a</sup>, Robin Potvin<sup>b,c</sup>, Carmen M. Neculita<sup>a\*</sup>

<sup>a</sup> Research Institute on Mines and Environment (RIME), University of Quebec in Abitibi-Temiscamingue (UQAT), 445 Boul. de l'Université, Rouyn-Noranda, QC, Canada, J9X5E4

<sup>b</sup> Technology Center for Industrial Waste (Centre Technologique des Résidus Industriels - CTRI), 425, Boul. du Collège, Rouyn-Noranda, QC, Canada, J9X5E5

<sup>c</sup> College of Abitibi-Temiscamingue (CEGEP-AT), 425, Boul. du Collège, Rouyn-Noranda, QC, Canada, J9X5E5

\* Corresponding author: Tel.: +1 (819) 762-0971, Ext.: 2278; Fax: +1 (819) 797-4727;

Email: Carmen-Mihaela.Neculita@uqat.ca (Carmen M. Neculita)

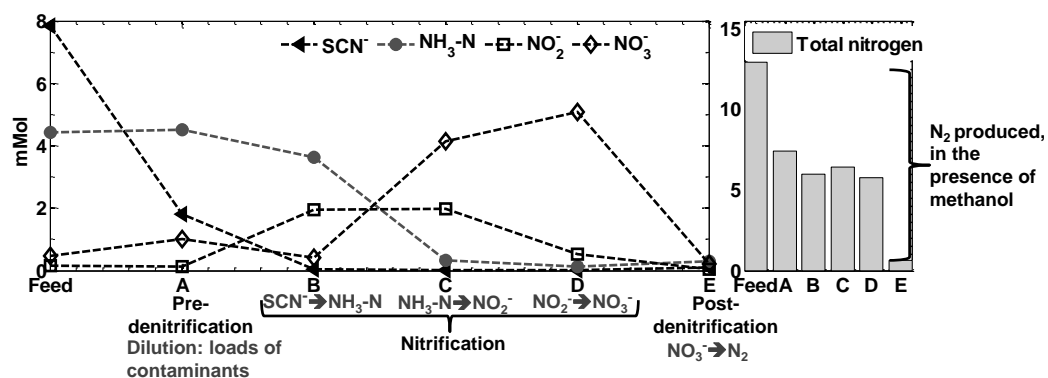
## 5.1 Résumé

Les cyanures et les explosifs sont des sources importantes des contaminants azotés dans les effluents des mines d'or. Les technologies chimiques enlèvent efficacement les cyanures, mais dégradent à peine les thiocyanates ( $\text{SCN}^-$ ) et génèrent l'azote ammoniacal ( $\text{N-NH}_3$ ) et les nitrates ( $\text{NO}_3^-$ ) qui requièrent un traitement complémentaire. La nitrification-dénitrification biologique est une alternative respectueuse de l'environnement et implique de faibles coûts, mais elle est peu connue pour son efficacité dans le traitement des effluents des mines d'or. L'objectif de cette étude a été d'évaluer la performance d'un système pilote de nitrification-dénitrification utilisant le méthanol pour le traitement de l'effluent d'une mine d'or. L'effluent qui a été échantillonné à l'entrée du système de traitement biologique d'une mine active d'or en activité, contenait des concentrations élevées de  $\text{SCN}^-$  ( $435 \pm 53$  mg/L) et de  $\text{N-NH}_3$  ( $41 \pm 8$  mg/L) à des pH alcalins (7,5-8,4). Les caractéristiques physico-chimiques de l'effluent, avant et après traitement, ont été évaluées sur une période de 140 jours et ce, en variant le temps de rétention hydraulique (TRH) et les facteurs de dilution. Les résultats qui indiquent la présence d'une activité biologique, montrent que les faibles TRH et facteurs de dilution affectent négativement l'enlèvement de  $\text{N-NH}_3$ , parce que les concentrations en  $\text{N-NH}_3$  ont doublé à la fin du processus de nitrification-dénitrification, engendrant des effets d'inhibition. Néanmoins, dans toutes les conditions, les  $\text{SCN}^-$  (>97%) et  $\text{NO}_3^-$  (>80%) ont été enlevés montrant la performance satisfaisante de l'approche de nitrification-dénitrification ainsi que l'efficacité du méthanol comme source de carbone organique.

### Mots clefs

Thiocyanate, composés azotés, méthanol, nitrification-dénitrification

## 5.2 Graphical abstract



## 5.3 Abstract

Cyanides and blasting agents are significant sources of nitrogen-based contaminants in gold mine effluents. Chemical technologies efficiently remove cyanides, but marginally degrade the thiocyanate (SCN<sup>-</sup>) and generate ammonia nitrogen (NH<sub>3</sub>-N) and nitrates (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) that require complementary treatment. Biological nitrification-denitrification is environmentally friendly and involves low costs, but little is known about treatment efficiency for gold mine effluents. The study assessed the performance of a nitrification-denitrification pilot-scale system using methanol for the treatment of a gold mine effluent. The effluent, which was sampled at the inlet of biological treatment plant of an active gold mine, contained high concentrations of SCN<sup>-</sup> (435 ± 53 mg/L) and NH<sub>3</sub>-N (41 ± 8 mg/L), at alkaline pH (7.5-8.4). Physicochemical characteristics of the effluent, before and after the treatment, were evaluated over a 140-day period, while varying the hydraulic retention time (HRT) and dilution factors. The results, which indicate the presence of biological activity, show that low HRTs and dilution factors adversely influenced the NH<sub>3</sub>-N removal, as NH<sub>3</sub>-N concentration doubled by the end of nitrification-denitrification, and entailed potential inhibitory effects. Nevertheless, under all conditions, the SCN<sup>-</sup> (>97%) and NO<sub>3</sub><sup>-</sup> (>80%) were efficiently removed showing the satisfactory performance of the nitrification-denitrification approach and methanol effectiveness as organic carbon source.

### Keywords

Thiocyanate, nitrogen-based contaminants, methanol, nitrification-denitrification

## 5.4 Introduction

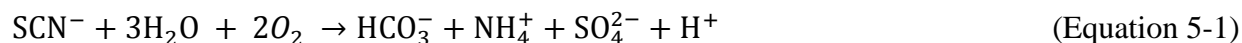
Significant sources of nitrogen-based contaminants include gold mine effluents, which are generated during the cyanidation leaching for gold and silver extraction, as well as by the use of blasting agents (Lay-Son et Drakies, 2008 ; Jermakka et al., 2015). The cyanidation of sulfidic ores, at high alkalinities, entails also the formation of thiocyanate ( $\text{SCN}^-$ ). Moreover, the incomplete oxidation of cyanides ( $\text{CN}^-$ ) and  $\text{SCN}^-$  generate ammonia nitrogen (i.e., non-soluble  $\text{NH}_3$ /soluble  $\text{NH}_4^+$  defined as  $\text{NH}_3\text{-N}$ ) as by-product, which must then be transformed into nitrates ( $\text{NO}_3^-$ ) (Botz et al., 2005 ; Oulego et al., 2014). Even though the  $\text{SCN}^-$ ,  $\text{NH}_3\text{-N}$ , and  $\text{NO}_3^-$  are less toxic than  $\text{CN}^-$ , they are persistent in the environment and complex to treat (Bhunja et al., 2000 ; Gould et al., 2012 ; Essam et al., 2014). An excess of nitrogen-based compounds may cause eutrophication, salinization, and acidification of the receiving waters, which might lead to aquatic toxicity (Smith et al., 1999 ; Bownik, 2010). Therefore, nitrogen contaminated gold mine effluents require treatment before the treated water is being discharged in natural streams.

The  $\text{NH}_3\text{-N}$  and  $\text{NO}_3^-$  treatment can involve physical, chemical, and/or biological processes (Botz et al., 2005 ; Gould et al., 2012 ; Jermakka et al., 2015 ; Watts et Moreau, 2016). Physical treatment consists of the separation/concentration of solids, liquids and/or gas, with the following main options: air stripping, freeze-thaw, evaporation, and membrane separation (e.g. reverse osmosis) (Biggar et al., 2005 ; Zhang et al., 2012 ; MEND, 2014 ; Jermakka et al., 2015). These technologies are usually expensive because they involve high energy consumption, pH adjustment, and temperature change (MEND, 2014 ; Shao et al., 2016). In the case of air stripping, freeze-thaw, and evaporation processes, the  $\text{NH}_3\text{-N}$  volatilization is little controlled and can entail air contamination (Zhang et al., 2012 ; Jermakka et al., 2015). In addition, although membrane separation technologies are very efficient for drinking water treatment and desalination, they require frequent maintenance and pretreatments (Holloway et al., 2015). As a result, this last approach is not often used for nitrogen removal in mine effluents (Lay-Son et Drakies, 2008 ; Häyrynen et al., 2009 ; MEND, 2014).

Chemical and/or electrochemical treatment of nitrogen-based compounds is efficient for high concentrations and involves fast degradation kinetics relative to the biological processes (Demin et al., 2002 ; Zaitsev et al., 2008 ; Gould et al., 2012 ; Mook et al., 2012 ; Jermakka et al., 2015).

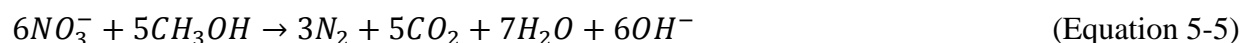
For example, chemical technologies, such as Advanced Oxidation Processes, allow  $\text{SCN}^-$  degradation, but they cannot efficiently and completely oxidize the  $\text{NH}_3\text{-N}$  into  $\text{NO}_3^-$  (Gould et al., 2012 ; Gonzalez-Merchan et al., 2016) and may generate toxic by-products (Mook et al., 2012). An economical alternative is biological passive treatment (Zhang et al., 2012 ; Jermakka et al., 2015 ; Shao et al., 2016) using wetlands and/or bioreactors. Wetlands (passive treatment) are nowadays used as an alternative to costly chemical technologies of mine effluents (Alvarez et al., 2013). However, in addition to an efficiency mainly contingent to low contaminant concentrations, biochemical nitrogen cycling is complex in wetlands and the complete treatment usually requires several steps (Green et al., 1997 ; Bastviken et al., 2003 ; Jermakka et al., 2015). The performance of wetlands is also strongly related to the hydrological conditions, while being limited at low temperature (Jermakka et al., 2015).

Another option is the reduction or oxidation of nitrogen-based compounds through biological active reactors (e.g., nitrification, denitrification, anammox, or ammonification), including Moving Bed Biofilm Reactor (MBBR), to provide optimal conditions for microorganisms' growth (Lackner et al., 2014 ; Jermakka et al., 2015) and appropriate hydraulic retention times (HRTs) (Lay-Son et Drakies, 2008 ; Novak et al., 2013 ; Villemur et al., 2015). These processes simultaneously degrade  $\text{SCN}^-$ ,  $\text{NH}_3\text{-N}$ , and  $\text{NO}_3^-$  (Villemur et al., 2015), and the microorganisms (autotrophic or chemolithotrophic) are capable to degrade the  $\text{SCN}^-$  (Watts et Moreau, 2016) by using carbon, nitrogen/sulfur as energy sources (Villemur et al., 2015). Chemolithotrophic bacteria allow sulfur oxidation in  $\text{SCN}^-$ , to produce  $\text{SO}_4^{2-}$  (Equation 5-1) (Huang et al., 2013 ; Huddy et al., 2015). Then, the by-products, such as  $\text{OCN}^-$ , are hydrolyzed into  $\text{NH}_3\text{-N}$ .



The  $\text{NH}_3\text{-N}$  and  $\text{NO}_3^-$  could afterwards be degraded by using nitrification-denitrification treatment process (Wang et al., 2008 ; Walters et al., 2009 ; Kantor et al., 2015). Nitrification involves the  $\text{NH}_3\text{-N}$  oxidation into nitrites ( $\text{NO}_2^-$ ), and subsequently, transforms them into  $\text{NO}_3^-$  (Equations 5-2 and 5-3), under aerobic conditions (Lay-Son et Drakies, 2008 ; Wang et al., 2008 ; Alvarez et al., 2013). By denitrification, the  $\text{NO}_3^-$  is afterwards reduced into nitrogen gas ( $\text{N}_2$ ), which is a non-toxic form of nitrogen (Equation 5-4) (Lu et al., 2015). This last step might be placed after the nitrification process as a post-denitrification reactor, under anaerobic condition, in the presence of

heterotrophic bacteria, and of external organic carbon sources (Zaitsev et al., 2008 ; Chen et al., 2016). The common external sources used are acetate, ethanol and methanol (Komorowska-Kaufman et al., 2006 ; Morita et al., 2008 ; Zaitsev et al., 2008). The efficiency of these carbon sources was previously reported (Komorowska-Kaufman et al., 2006 ; Morita et al., 2008), along with methanol being pointed out as low cost substrate which allowed the  $\text{NO}_3^-$  reduction to  $\text{N}_2$  (Equation 5-5) (Zaitsev et al., 2008).



In the nitrification-denitrification process, the high concentrations of  $\text{NH}_3\text{-N}$  and  $\text{SCN}^-$  can cause inhibitory effects (Novak et al., 2013). One solution could be an internal dilution (e.g., pre-denitrification), to allow the reduction of contaminant loads and contribute to carbon and nitrogen removal (Kim et al., 2011). The pre-denitrification uses a mixture of nitrified-effluent and raw effluent (Kim et al., 2011 ; Essam et al., 2014).

Although denitrification-nitrification treatment process is advantageous (Kim et al., 2011 ; Jermakka et al., 2015 ; Villemur et al., 2015), reactors' configuration, in the pre- and post-denitrification steps, and methanol performance, as external organic carbon source for the treatment of high  $\text{SCN}^-$  concentrations are little known.

In this context, the objective of the present study was to assess the performance of the nitrification-denitrification including pre- and post-denitrification steps, in the presence of methanol, for  $\text{SCN}^-$ ,  $\text{NH}_3\text{-N}$  and  $\text{NO}_3^-$  removal in a gold mine effluent.

## 5.5 Materials and methods

### 5.5.1 Site description and sampling

The performance of nitrification-denitrification process was assessed with an effluent collected from the inlet of the  $\text{CN}^-$  treatment plant of a gold mine, which is located in the Quebec's Province

of Canada. The  $\text{CN}^-$  treatment uses chemical and biological technologies. Chemical process generates toxic by-products, such as  $\text{NH}_3\text{-N}$ , and cannot treat the  $\text{SCN}^-$ , which are altogether removed by nitrification in three biological reactors, with HRT of approximately 6 hours, each (Villemur et al., 2015). The first reactor transforms the  $\text{SCN}^-$  and/or  $\text{OCN}^-$  into  $\text{NH}_3\text{-N}$ ; then, second and third reactors degrade the  $\text{NH}_3\text{-N}$  into  $\text{NO}_3^-$ . Each container contains MBBR, which were microbiologically characterized in detail by Villemur et al. (2015). For the first stage of nitrification process, the main bacteria identified were *Thiobacillus spp.*, while in the second and third steps *Nitrobacter*, *Nitrosospira*, *Nitrosomonas* and *Nitrospira* were found, in addition to *Thiobacillus spp.*

In the present study, the effluent was sampled at the inlet of the biological treatment plant every two weeks, over a six month period (July to December 2015). After characterization, the mean and standard deviation were calculated ( $n=40$ ) for all physicochemical parameters (Table 5-1). Sludge was also sampled, after the third step of the biological process, at the bottom of settling basin. Finally, the MBBR were collected from each stage of the biological treatment, to accurately reproduce the nitrification at laboratory pilot-scale.

### 5.5.2 Pilot-scale system for the nitrification-denitrification process

The nitrification-denitrification process was tested by using pilot-scale reactors, during a 140-day period, at room temperature ( $15\text{-}25^\circ\text{C}$ ), with continuous flow of the effluent stored in a tank and replenished every two weeks (Figure 5-1). The pilot-scale system used for pre-denitrification, nitrification and post-denitrification, consisted of five 20 L containers (Figure 5-1), with effective volume of 17.5 L, each. Effluent flow was ensured by six pre-calibrated peristaltic pumps (Masterflex). The nitrification-denitrification was performed in two steps: 1) nitrification reproduced in three reactors (B to D); 2) pre-denitrification and post-denitrification performed with two other reactors, which were installed prior and following the nitrification step (A and E, respectively).



Table 5-1: Physicochemical composition (in mg/L, except for pH) of the gold mine effluent tested in pilot nitrification-denitrification system

Parameter	Values*
pH	7.5 - 8.4
ORP (mV)	125±38
DO	8.7±1.1
DOC	103±1
SCN <sup>-</sup>	435±53
OCN <sup>-</sup>	54±1
SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	2362±320
NH <sub>3</sub> -N	41±8
NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	5.2±3.1
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	65±37

\*: Mean ± standard deviation were calculated from 40 measurements

The performance of pilot-scale system was evaluated according to the HRTs, which were modified three times (reactors A to D; Table 5-1). At the beginning, the HRT was of 10 hours, i.e. higher than the one used in the real treatment plant, to allow the colonization of microorganisms on the biofilm for SCN<sup>-</sup> degradation, as previous found by Villemur et al. (2015).

As a reminder, this last study tested the same biomass used in the present study for the treatment of synthetic effluents. The HRT was then decreased to 5.5 hours to achieve conditions similar to the mine treatment plant (~6 hours) (Villemur et al., 2015). However, the performance of pilot-scale system was adversely affected, and therefore, the HRT was increased up again to 8 hours. Noteworthy, for the reactor E, the HRT (HRT<sub>E</sub>) varied from 8 to 13 hours (Table 5-2).

The feed (Q<sub>F</sub>) and recirculation (Q<sub>R</sub>) flows varied with the HRT, which involved the variation of dilution factors (from 1.4 to 1.8) in the pre-denitrification step (Figure 5-1 ; Table 5-2). The dilution factors were estimated considering the Q<sub>F</sub> and Q<sub>R</sub> (Equation 5-6 ; Table 5-2).

$$\text{Dilution factor} = \frac{Q_F + Q_R}{Q_F} \quad (\text{Equation 5-6})$$

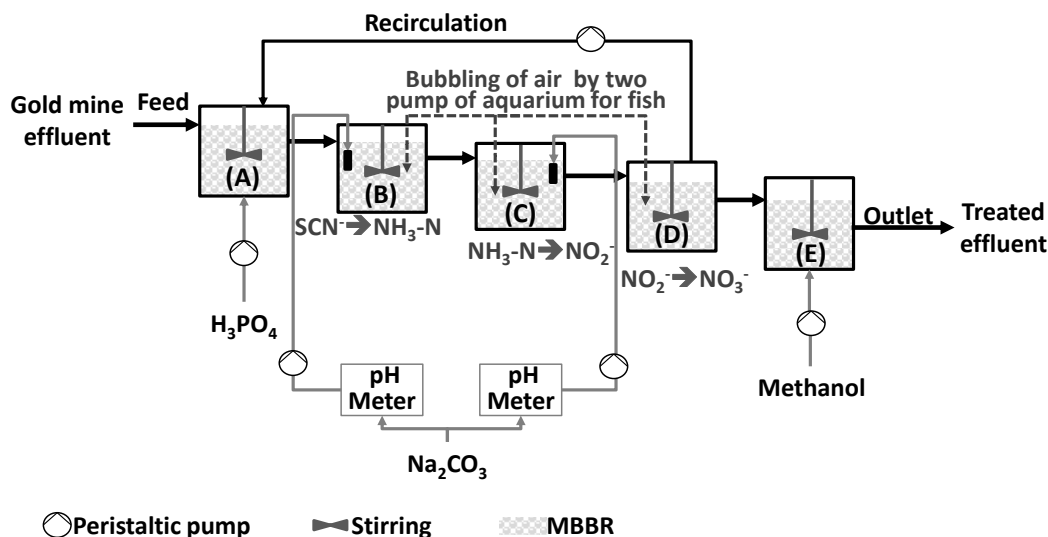


Figure 5-1: Pilot-scale reactors used for the nitrification-denitrification process [pre-denitrification (A), nitrification (B to D), and post-denitrification (E)]

### 5.5.2.1 Nitrification process

The nitrification was assessed in three reactors, in which the following processes were expected (Villemur et al., 2015) : 1) the  $\text{SCN}^-$  is oxidized into  $\text{NH}_3\text{-N}$  (reactor B); 2) the  $\text{NH}_3\text{-N}$  is transformed into nitrites ( $\text{NO}_2^-$ ; reactor C); 3) the  $\text{NO}_2^-$  is oxidized into  $\text{NO}_3^-$  (reactor D; Figure 5-1). As previously mentioned, the MBBR microorganisms used in laboratory testing were sampled from the corresponding steps of the treatment plant for a gold mine effluent. This process started with the incubation of bacteria for each reactor during the first 7 days, and afterward, over the next 10 days, the nitrification was performed (under continuous flow), at 8.3 hours of HRT. The pH was maintained at 7.4, during the entire testing period, by using a metering-pump and sodium carbonate ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ). To provide aerobic conditions, dissolved oxygen (DO) was bubbled by two air pumps (Whisper 30-60 for aquarium fish) per container, while stirring agitators were set at 200 rpm, in each step.

Table 5-2: Variation of parameters with the HRT and dilution factors during the pilot testing

n°	Dilution factor in the pre- denitrification step	HRT tested (hours) <sup>a</sup>	HRT <sub>E</sub> (hours) <sup>b</sup>	Flow (mL/min)		Dilution (v/v)	
				Q <sub>F</sub>	Q <sub>R</sub> reactor D to A	H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	Methanol
48	1.4	10±3	13±13	21.0±6	9.0±0	0.4%	20%
14	1.5	5.5±0.9	8±1	36.3±5.2	18.7±3.9	0.4%	20%
39	1.6	5.5±1.3	10±4	33.1±9.5	21.4±1	0.8%	10%
39	1.8	8±1	14±2	21.0±2.8	16.8±4.5	1.5%	10%

<sup>a</sup> Q<sub>F</sub> and Q<sub>R</sub> flows were considered for the HRT estimation of reactors A to D

<sup>b</sup> Q<sub>F</sub> flow was considered for the HRT<sub>E</sub> estimation of reactor E

### 5.5.2.2 Denitrification process

Pre-denitrification and post-denitrification reactors (A and E, respectively) were initially operated in batch system, during the first 10 days, to allow bacteria adaptation. Each reactor contained 8 L of clean MBBR, 3 L of sludge, and 2 mL of phosphoric acid (H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, 75%) to provide a phosphor source to MBBR, at low stirring (100 rpm).

The pre-denitrification (reactor A) consisted of a mixture of 10 L of gold mine effluent and 5 L from the reactor D (where mostly NO<sub>3</sub><sup>-</sup> was present), while the post-denitrification consisted of 15 L of the last nitrification stage, to which 15 mL of methanol (99%) were added. In the reactor A, the SCN<sup>-</sup> was used as mineral carbon source, and NO<sub>3</sub><sup>-</sup> as electron donor. Then, three dilutions of H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> were added at the inflow of 0.11 mL/min (Table 5-2).

In the post-denitrification step (reactor E; Figure 5-1), methanol was used as organic carbon source to treat the NO<sub>3</sub><sup>-</sup>. The feed of this process was the effluent from the last reactor of the nitrification, and the methanol feed rate varied between 0.1 and 0.2 mL/min (Table 5-2).

### 5.5.3 Physicochemical characterization

Physicochemical characteristics of the effluent, including pH, oxidation-reduction potential (ORP), DO, NH<sub>3</sub>-N, NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>, SCN<sup>-</sup>, and dissolved organic carbon (DOC), were analyzed before

and after each treatment step. The pH, ORP, and DO were measured using Hach electrodes (IntelliCAL™ pH PHC 101, IntelliCAL™ ORP-REDOX MTC 101, and LDO 101 respectively). The NH<sub>3</sub>-N was determined with a selective electrode (Orion 9512HPBNWP), according to the standard method (APHA, 2012). The anions NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, and SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> were analyzed by ionic chromatography (CEAEQ, 2014). SCN<sup>-</sup> concentrations were determined under acidic conditions, using Fe(III), which produces with SCN<sup>-</sup> a colored complex, and then, the absorbance was measured at a wavelength of 460 nm with a spectrophotometer (Cary 300 Bio) (APHA, 2012). Finally, the DOC was measured using a TOC meter (V CPHV Shimadzu) (APHA, 2012).

#### 5.5.4 Data processing

Treatment performance was evaluated as based on the efficiency of SCN<sup>-</sup>, NH<sub>3</sub>-N, NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, and NO<sub>3</sub><sup>-</sup> degradation, which was calculated with the Equation 5-7:

$$\text{Efficiency (\%)} = \frac{C_i - C_f}{C_i} \cdot 100 \quad (\text{Equation 5-7})$$

where C<sub>i</sub> and C<sub>f</sub> are the concentrations before and after each nitrification and/or denitrification step, respectively.

### 5.6 Results and discussion

The results showed that the efficiency of SCN<sup>-</sup>, NH<sub>3</sub>-N, and NO<sub>3</sub><sup>-</sup> removal increased with the dilution factor and the HRT. The evolution of physicochemical parameters in the nitrification-denitrification treatment process, including the pre-denitrification (reactor A), nitrification (reactors B to D), and post-denitrification (reactor E), is discussed herein.

#### 5.6.1 Pre-Denitrification (reactor A)

In the pre-denitrification step, for all HRT tested, anoxic condition was found, i.e. the DO values were low ( $0.3 \pm 0.1$  to  $0.5 \pm 0.2$  mg/L), while the pH was mostly alkaline (maximum of 9.2; Table 5-3). In the same time, the ORP values varied with the HRT. Moreover, as expected, at 5.5 hours of HRT the ORP was higher ( $94 \pm 20$  mV) than at  $\geq 8$  hours of HRT ( $-28$  mV).

Table 5-3: Evolution of pH, ORP, and DO with the dilution factor during the nitrification-denitrification treatment process

Reactor	Dilution factor in the reactor A	HRT (hours)	pH	ORP (mV)	DO (mg/L)
A	1.4	10	8.1 - 9.0	22±150	0.3±0.1
	1.5	5.5	8.7 - 8.8	82±27	0.5±0.1
	1.6	5.5	8.0 - 9.2	95±62	0.5±0.2
	1.8	8	6.8 - 8.5	-31±97	0.4±0.1
B	1.4	10	7.1 - 7.9	74±48	5.5±0.9
	1.5	5.5	7.7 - 8.1	109±40	4.7±1.1
	1.6	5.5	7.4 - 7.8	102±36	5.6±1.3
	1.8	8	7.3 - 9.0	74±72	5.2±1.1
C	1.4	10	7.0 - 8.1	85±36	8.2±0.4
	1.5	5.5	7.4 - 7.5	144±36	7.3±0.3
	1.6	5.5	7.1 - 7.7	119±33	6.6±2.2
	1.8	8	7.2 - 8.6	104±83	7.3±1.2
D	1.4	10	7.1 - 8.2	73±41	8.8±0.5
	1.5	5.5	6.8 - 7.2	147±39	8.6±0.3
	1.6	5.5	6.0 - 6.9	137±36	8.0±1.1
	1.8	8	4.7 - 8.2	99±85	9.0±1.5
E	1.4	13	7.1 - 8.5	-52±90	0.3±0.1
	1.5	8	6.9 - 8.1	68±83	0.7±0.2
	1.6	10	6.4 - 7.0	-139±162	0.5±0.1
	1.8	14	6.4 - 7.8	-148±136	0.5±0.2

The high initial concentrations of  $\text{SCN}^-$  ( $435 \pm 53$  mg/L) decreased all along, with respect to dilution factors and HRT. Similar removal efficiency of  $\text{SCN}^-$  was found at 10 hours of HRT and a dilution factor of 1.4 (53%) and at 5.5 hours of HRT and dilution factor of 1.6 (54%; Figure 5-2). At this point, the lowest efficiency was recorded at the lowest HRT tested (i.e. 5.5 hours), and

dilution factor of 1.5 (37%). Then, when HRT was increased to 8 hours and dilution factor to 1.8, removal efficiency of  $\text{SCN}^-$  reached a peak of 77%, consistent with previously reported findings (Villemur et al., 2015), in which 67% of  $\text{SCN}^-$  was degraded at 10 hours of HRT and a dilution factor of 2. Increased removal efficiencies at higher dilution factors were also found by Kim et al. (2011). In this last study, at 10 hours of HRT, removal efficiency tripled (from 30 to 90%), when the dilution factors increased from 2 to 5.

Overall, the  $\text{SCN}^-$  concentrations at the end of the pre-denitrification step were lower compared to the calculated concentrations (approximately 203 vs. 310 mg/L, respectively). The DOC concentrations also decreased in the pre-denitrification step (from 103 to 65 mg/L) with respect to  $\text{SCN}^-$  removal.

The concentrations of  $\text{SO}_4^{2-}$  and  $\text{NH}_3\text{-N}$  in the pre-denitrification step (reactor A) were 1.2 and 1.7 times higher than in the gold mine effluent (Figure 5-2), with respect HRT and contaminant dilution. These results show that  $\text{SCN}^-$  was partially transformed into  $\text{SO}_4^{2-}$  and  $\text{NH}_3\text{-N}$  (Equation 5-1). The pre-denitrification reduces the load of contaminants (Kim et al., 2011 ; Essam et al., 2014 ; Villemur et al., 2015). However, the inorganic carbon in  $\text{SCN}^-$  could have been consumed for biological activity (Kim et al., 2011), when biological pre-denitrification contributed to the treatment of 500 mg/L  $\text{SCN}^-$ . In fact, Kim et al. (Kim et al., 2011) clearly showed that the  $\text{SCN}^-$  could be used for the degradation of nitrogen-based compounds.

In the present study, results also showed that the  $\text{NO}_3^-$  was efficiently removed (~80%), for dilution factors between 1.4 and 1.6, whereas the  $\text{NO}_2^-$  concentrations increased (Figure 5-2). One explanation could be that under anoxic conditions, such as the ones present in the pre-denitrification step, the  $\text{NO}_3^-$  was transformed into  $\text{NO}_2^-$  ( Lay-Son et Drakies, 2008 ; Kim et al., 2011). However, at a dilution factor of 1.8, the  $\text{NO}_3^-$  doubled the feed concentrations and only 30% of  $\text{NO}_2^-$  was removed. These apparently contradictory results could be explained by the dilution performed with the nitrated effluent from the reactor D, with high  $\text{NO}_3^-$  concentrations (Figure 5-1 and Figure 5-2). In addition, the  $\text{NO}_2^-$  was inversely related to the  $\text{NO}_3^-$  concentrations (Figure 5-2), which increased when the  $\text{NO}_2^-$  was removed.

Finally, the mass balance (Figure 5-3) of nitrogen-based compounds in the pre-denitrification step confirmed that total nitrogen decrease (on average from 170 to 130 mg/L) was mainly due to

dilution. For example, the initial concentrations of nitrogen in the raw effluent were found (by calculation) 1.75 higher than in the reactor A (in which the dilution factor applied was of 1.8).

## 5.6.2 Nitrification (reactors B to D)

As mentioned earlier, in the reactors B and C, the pH was maintained constant, at 7.5, by addition of  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ . In the same time, in the reactor D, the pH varied with the HRT. Hence, at  $\text{HRT} \geq 8$  hours, the pH was higher than at 5.5 hours of HRT (7.8 vs. 6.5), while in all reactors used in the nitrification process, the ORP varied between 73 and 147 mV. In the nitrification step, the DO increased ( $\sim 8.6$  mg/L); hence, the presence of aerobic conditions, which potentially contributed to  $\text{NH}_3\text{-N}$  oxidation (Kim et al., 2011 ; Kantor et al., 2015 ; Watts et Moreau, 2016), was confirmed. These results also suggest that the nitrification was only partial and influenced the pH condition (Lay-Son et Drakies, 2008 ; Kim et al., 2011).

### 5.6.2.1 Reactor B

In the reactor B, the concentrations of  $\text{SCN}^-$ ,  $\text{NH}_3\text{-N}$ ,  $\text{NO}_3^-$  and  $\text{NO}_2^-$  were related to the dilution factor and the HRT. At 5.5 hours of HRT, the  $\text{SCN}^-$  removal was lower relative to  $\text{HRT} \geq 8$  hours (50 vs.  $>80\%$ ). The  $\text{SO}_4^{2-}$  significantly increased ( $3250 \pm 125$  mg/L), while under aerobic conditions, the DOC concentrations decreased ( $\sim 5$  mg/L). Previous findings (Villemur et al., 2015 ; Watts et Moreau, 2016) showed that bacteria are capable of using  $\text{SCN}^-$  as energy source via sulfur oxidation. Microorganisms' activity also requires the inorganic carbon source in  $\text{SCN}^-$ , to transform sulfur compounds into  $\text{SO}_4^{2-}$  (Equation 5-1) (Watts et Moreau, 2016). At 10 hours of HRT, DOC removal efficiency topped 90% (Figure 5-2), consistently with the  $\text{SCN}^-$  degraded.

These results could be explained by the sulfur balance, which maintained relatively constant throughout the nitrification-denitrification process (Figure 5-3), with  $\text{SO}_4^{2-}$  being generated and  $\text{SCN}^-$  removed. At  $\text{HRT} \geq 8$  hours, the  $\text{NH}_3\text{-N}$  was partially removed ( $>20\%$ ), while  $\text{NO}_3^-$  removal was also low ( $\sim 30\%$ ). In the same time, the  $\text{NO}_2^-$  increased (Figure 5-2), consistently with nitrogen balance (Figure 5-3), i.e. the  $\text{NO}_2^-$  is an intermediate nitrogen form between  $\text{NH}_3\text{-N}$  and  $\text{NO}_3^-$ . Overall, in the nitrification step, only a small portion of  $\text{NO}_3^-$  was transformed into  $\text{NO}_2^-$ , when the  $\text{NH}_3\text{-N}$  was removed (Lay-Son et Drakies, 2008 ; Kim et al., 2011).

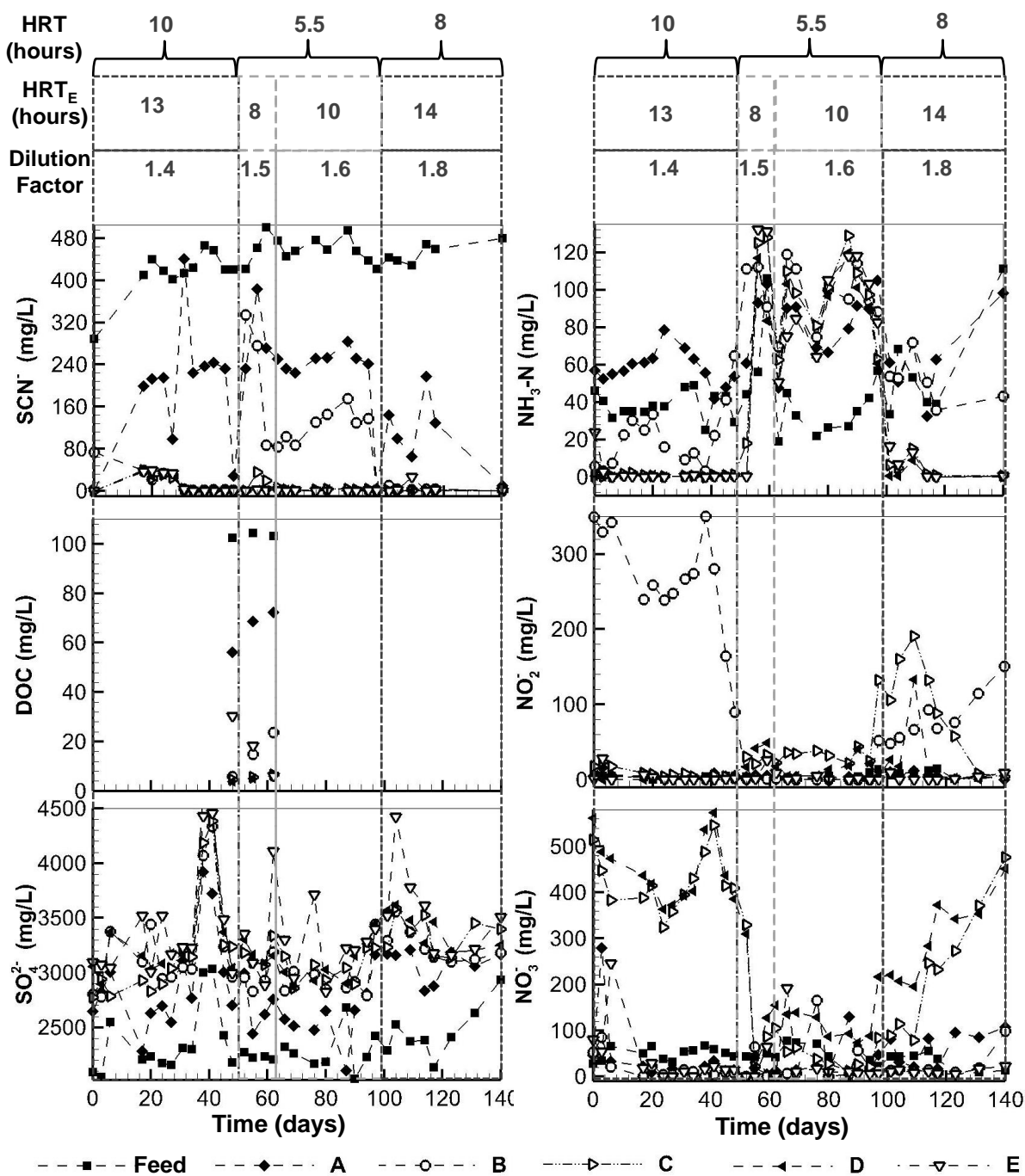


Figure 5-2: Evolution of chemical parameters during the nitrification-denitrification process in pilot treatment system of gold mine effluent



In contrast, at 5.5 hours of HRT, the  $\text{NH}_3\text{-N}$  and  $\text{NO}_3^-$  concentrations were higher in reactor B than in reactor A (1.3 and 1.7 times, respectively), while the  $\text{NO}_2^-$  decreased to 60%. Hence,  $\text{SO}_4^{2-}$  and  $\text{NH}_3\text{-N}$  were generated, when  $\text{SCN}^-$  was removed. Villemur et al. (2015) also found that the first step of nitrification transforms the  $\text{SCN}^-$  into  $\text{NH}_3\text{-N}$ , when MBBR and sludge collected from the real biological treatment plant were used.

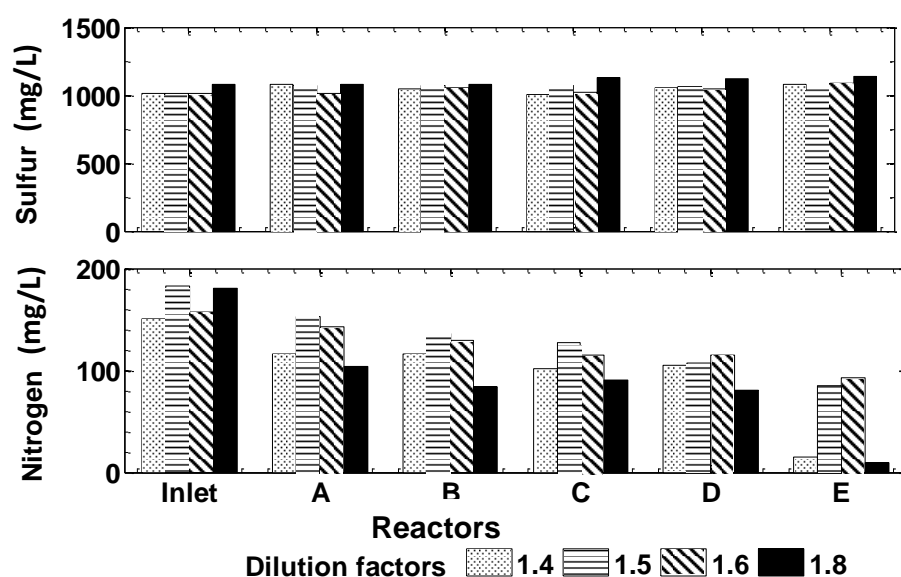


Figure 5-3: Balance of sulfur and nitrogen-based compounds for each reactor in the nitrification-denitrification process in pilot treatment system

### 5.6.2.2 Reactor C

In this third reactor, the  $\text{NH}_3\text{-N}$  was degraded into the  $\text{NO}_2^-$  (Villemur et al., 2015). At  $\text{HRT} \geq 8$  hours, the  $\text{SCN}^-$  concentrations were very low ( $\text{SCN}^- < 2$  mg/L; Figure 5-3), while the  $\text{NH}_3\text{-N}$  was completely degraded ( $>91\%$ ). However, at 5.5 hours of HRT, the  $\text{SCN}^-$  was (on average)  $28 \pm 8$  mg/L, when the  $\text{NH}_3\text{-N}$  was marginally removed ( $< 30\%$ ). These results are probably related to the high initial concentrations of  $\text{NH}_3\text{-N}$  generated ( $\sim 127$  mg/L) in the reactor B, at 5.5 hours of HRT, which adversely affected bacteria (Lay-Son et Drakies, 2008 ; Essam et al., 2014). Despite these differences, the  $\text{NO}_2^-$  was 1.2 times higher in the reactor C than in reactor B. In fact, the  $\text{NH}_3\text{-N}$  was transformed into  $\text{NO}_2^-$  in the presence of aerobic conditions by the

microorganisms' activity (Equation 5-2) (Lackner et al., 2014) which could be explained by a partial nitrification process (Villemur et al., 2015).

### 5.6.2.3 Reactor D

In this last nitrification reactor, the  $\text{NO}_2^-$  was oxidized into the  $\text{NO}_3^-$  [25] (Villemur et al., 2015), and, under all conditions, the  $\text{SCN}^-$  was almost completely removed (>97%). The  $\text{NO}_3^-$  increased 1.5 times the concentrations of reactor C, when the  $\text{NO}_2^-$  concentrations decreased (>70%), except for the low HRT (5.5 hours), in which the  $\text{NO}_2^-$  increased. Despite these differences, the results clearly indicated that nitrification was achieved following microbial activity, during which the  $\text{NO}_2^-$  was efficiently oxidized into  $\text{NO}_3^-$  (Equation 5-3) (Walters et al., 2009 ; Essam et al., 2014). However, at low dilution factor, the high  $\text{NH}_3\text{-N}$  concentrations adversely affected this process. Although the balance in terms of nitrogen-based compounds was very similar throughout the nitrification process (Figure 5-3), a potential toxicity (for reactors A to D), was probably entailed, at low dilution factors.

### 5.6.3 Post-denitrification (reactor E)

In the post-denitrification step, similar conditions as in the pre-denitrification were found. The pH and DO concentrations maintained very similar for each period, with respect to varying dilution factors (Table 5-3), under anoxic and alkaline conditions. These findings could be explained by the  $\text{OH}^-$  generated during denitrification (in the presence of methanol) (Equation 5-5). The ORP, which was lower compared to nitrification process (as required for the  $\text{NO}_3^-$  treatment) (Jermakka et al., 2015) increased when the  $\text{HRT}_E$  decreased (Table 5-3). Hence, at 8 hours of  $\text{HRT}_E$ , the ORP was  $68 \pm 83$  mV, whereas at  $\text{HRT}_E \geq 10$  hours the ORP was below -48 mV. In the post-denitrification step, the low  $\text{HRT}_E$  could adversely influence the ORP and pH for the nitrogen-based compounds degradation. The pH is indeed a primary factor in the  $\text{NH}_3\text{-N}$  equilibrium, because under alkaline conditions the  $\text{NH}_3$  could be volatilized, whereas at low pH the  $\text{NH}_4^+$  remains in solution (Jermakka et al., 2015).

Moreover in the reactor E, the  $\text{NO}_3^-$  was successfully removed under all tested conditions (>80%). The efficiencies of  $\text{NO}_3^-$  varied only slightly with the  $\text{HRT}_E$ : at 13 and 14 hours, the efficiency of  $\text{NO}_3^-$  removal was 96%, whereas at 8 and 10 hours, it decreased to 89%. In addition, the nitrogen

based-compounds removal was of 47 and 95%, at  $HRT_E$  of 8 hours and  $\geq 10$  hours, respectively (Figure 5-3). Even though the  $NO_3^-$  removal slightly decreased with the  $HRT_E$ , these findings suggest that for all conditions the  $N_2$  was produced after post-denitrification process. For example, the degradation of approximately 5 mole of  $NO_3^-$  led to production of 2.5 mole of  $N_2$ ; thus, the molar ratio was 2:1 [ $NO_3^-:N_2$ ], consistent with the stoichiometry of the Equation 5-5. These results were consistent with Zaitsev et al. (2008) who found that methanol allowed efficient  $NH_3-N$  and  $NO_3^-$  removal, even at low temperatures.

The feasibility of  $NO_3^-$  degradation with methanol as organic carbon source was hence confirmed due to the  $N_2$  produced, consistently with previously reported findings (Zaitsev et al., 2008 ; Lu et al., 2015). Nevertheless, the low performance in the nitrification-denitrification process was related to the low dilution factors and HRT (Kim et al., 2011 ; Yan et al., 2016). At  $HRT_E$  of 8 hours, the  $NH_3-N$  achieved was on average of 85 mg/L and, as a result, in the reactor E, the  $NH_3-N$  was doubled compared to feed concentrations. In fact, the  $NH_3-N$  could be a source of toxicity for the bacteria, related to the low dilution factor and HRT, as shown by Lay-Son et al. (2008).

Overall, the  $SCN^-$  was completely removed under all conditions with the nitrification-denitrification treatment process, but the  $NH_3-N$  could entail the inhibition of bacteria in the biological process, which adversely influence the  $NH_3-N$  and  $NO_3^-$  treatment.

## 5.7 Conclusion

The performance of a nitrification-denitrification pilot-scale treatment system, including pre- and post-denitrification steps, was assessed for a gold mine effluent, characterized by high concentrations of  $SCN^-$  ( $435 \pm 53$  mg/L) and  $NH_3-N$  ( $41 \pm 8$  mg/L), at alkaline pH (7.5-8.4). The results indicated the presence of biological activity, which allowed the degradation of nitrogen-based compounds and of  $SCN^-$ . In the pre-denitrification step, total nitrogen was reduced mainly by dilution. However, low dilution factors and HRT adversely influenced the removal of  $NH_3-N$ , which also entailed inhibitory effects. Thus, at 5.5 hours of HRT and a dilution factor of 1.5, the  $NH_3-N$  concentration increased to up to double, at the end. Nevertheless, for all tested conditions, the  $SCN^-$  and  $NO_2^-$  were efficiently removed ( $>97\%$  and  $>70\%$ , respectively). The  $NO_3^-$  was also successfully removed ( $>80\%$ ), with methanol as sole organic carbon source in the

post-denitrification step. The evolvement of  $N_2$  was supported by the results, as after the calculation of the nitrogen balance, total nitrogen concentrations decreased by 47 and 95%, at dilution factors of 1.5 and 1.8, respectively. Hence, the nitrification-denitrification was found promising for the treatment of  $SCN^-$ ,  $NH_3-N$ , and  $NO_3^-$  in gold mine effluents, with methanol as organic carbon source, but a detailed microbiological study is recommended, prior to further validation at full-scale.

## 5.8 Acknowledgements

This work was funded by the Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada (NSERC), the industrial partners of RIME UQAT-Polytechnique (Agnico Eagle, Canadian Malartic Mine, Iamgold Corporation, Raglan Mine-Glencore, and Rio Tinto), and Mabarex. The authors gratefully acknowledge the important contribution of CTRI and the assistance of Sabrina Castelli, Félicia Porqueres, Khalifa Lounate, and Marc Paquin during the experimental procedures.

## 5.9 References

- Alvarez R., Ordóñez A., Loredó J., Younger P. L., 2013. Wetland-based passive treatment systems for gold ore processing effluents containing residual cyanide, metals and nitrogen species. *Environmental Science: Processes & Impacts* 15; 2115-2124.
- American Public Health Association (APHA), 2012. Standard methods for the examination of water and wastewater. 22th Ed. Washington, DC, USA.
- Bastviken S. K., Eriksson P. G., Martins I., Neto J. M., Leonardson L., Tonderski K., 2003. Potential nitrification and denitrification on different surfaces in a constructed treatment wetland. *Journal of Environmental Quality* 32; 2414-2420.
- Bhunja F., Saha N. C., Kaviraj A., 2000. Toxicity of thiocyanate to fish, plankton, worm, and aquatic ecosystem. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 64; 197-204.
- Biggar K. W., Donahue R., Sego D., Johnson M., Birch S., 2005. Spray freezing decontamination of tailings water at the Colomac Mine. *Cold Regions Science and Technology* 42; 106-119.

Botz M. M., Mudder T. I., Akcil A. U., 2005. Cyanide treatment: physical, chemical and biological process. *Developments in Mineral Processing* 15; 672-702.

Bownik A., 2010. Harmful algae: effects of alkaloid cyanotoxins on animal and human health. *Toxin Reviews* 29; 99-114.

Centre d'Expertise en Analyse Environnementale du Québec (CEAEQ), 2014. Détermination des anions : méthode par chromatographie ionique. MA. 300-Ions 1.3, Rév. 3 (in French), MDDELCC (Ministère du Développement durable, de l'Environnement et de la Lutte contre les changements climatiques - Ministry of Sustainable Development, Environment and the Fight against Climate Change), QC, Canada.

Chen Z., Wang X., Yang Y., Mirino M. W., Yuan Y., 2016. Partial nitrification and denitrification of mature landfill leachate using a pilot-scale continuous activated sludge process at low dissolved oxygen. *Bioresource Technology* 218; 580-588.

Demin O. A., Dudeney A. W. L., Tarasova I. I., 2002. Remediation of ammonia-rich minewater in constructed wetlands. *Environmental Technology* 23; 497-514.

Essam T., ElRakaiby M., Agha A., 2014. Remediation of the effect of adding cyanides on an algal/bacterial treatment of a mixture of organic pollutants in a continuous photobioreactor. *Biotechnology Letters* 36; 1773-1781.

Gonzalez-Merchan C., Genty T., Bussière B., Potvin R., Paquin M., Benhammadi M., Neculita C. M., 2016. Ferrates performance in thiocyanates and ammonia degradation in gold mine effluents. *Mineral Engineering* 95; 124-130.

Gould D. W., King M., Mohapatra B. R., Cameron R. A., 2012. A critical review on destruction of thiocyanate in mining effluents. *Mineral Engineering* 34; 38-47.

Green M., Friedler E., Ruskol Y., Safrai I., 1997. Investigation of alternative method for nitrification in constructed wetlands. *Water Science & Technology* 35; 63-70.

Häyrynen K., Pongrácz E., Väisänen V., Pap N., Mänttari M., Langwaldt J., Keiski R. L., 2009. Concentration of ammonium and nitrate from mine water by reverse osmosis and nanofiltration. *Desalination* 240; 280-289.

- Holloway R. W., Achilli A., Cath T. Y., 2015. The osmotic membrane bioreactor: a critical review. *Environmental Science: Water Research & Technology* 1; 581-605.
- Huang H., Feng C., Pan X., Wu H., Ren Y., Wu C., Wei C., 2013. Thiocyanate oxidation by coculture from a coke wastewater treatment plant. *Journal of Biomaterials & Nanobiotechnology* 4; 37-46.
- Huddy R. J., van Zyl A. W., van Hille R. P., Harrison S. T., 2015. Characterisation of the complex microbial community associated with the ASTER™ thiocyanate biodegradation system. *Mineral Engineering* 76; 65-71.
- Jermakka J., Wendling L., Sohlberg E., Heinonen H., Vikman M., 2015. Potential technologies for the removal and recovery of nitrogen compounds from mine and quarry waters in subarctic conditions. *Critical Reviews in Environmental Science & Technology* 45; 703-748.
- Kantor R. S., Zyl A. W., Hille R. P., Thomas B. C., Harrison S.T., Banfield J. F., 2015. Bioreactor microbial ecosystems for thiocyanate and cyanide degradation unraveled with genome-resolved metagenomics. *Environmental Microbiology* 17; 4929-4941.
- Kim Y. M., Cho H. U., Lee D. S., Park C., Park D., Park J. M., 2011. Response of nitrifying bacterial communities to the increased thiocyanate concentration in pre-denitrification process. *Bioresource Technology* 102; 913-922.
- Kim Y. M., Park D., Lee D. S., Park J. M., 2008. Inhibitory effects of toxic compounds on nitrification process for cokes wastewater treatment. *Journal of Hazardous Materials* 152; 915-921.
- Komorowska-Kaufman M., Majcherek H., Klaczyński E., 2006. Factors affecting the biological nitrogen removal from wastewater. *Process Biochemistry* 41; 1015-1021.
- Lackner S., Gilbert E. M., Vlaeminck S. E., Joss A., Horn H., van Loosdrecht M. C., 2014. Full-scale partial nitritation/Anammox experiences—an application survey. *Water Research* 55; 292-303.
- Lay-Son M., Drakies C., 2008. New approach to optimize operational conditions for the biological treatment of high-strength thiocyanate and ammonium waste: pH as key factor. *Water Research* 42; 774-780.

- Lu L., Cheng H., Pu X., Liu X., Cheng Q., 2015. Nitrate behaviors and source apportionment in an aquatic system from a watershed with intensive agricultural activities. *Environmental Science: Processes & Impacts* 17; 131-144.
- Mook W. T., Chakrabarti M. H., Aroua M. K., Khan G. M. A., Ali B. S., Islam M. S., Hassan M. A., 2012. Removal of total ammonia nitrogen (TAN), nitrate and total organic carbon (TOC) from aquaculture wastewater using electrochemical technology: A review. *Desalination* 285; 1-13.
- Morita M., Uemoto H., Watanabe A., 2008. Nitrogen-removal bioreactor capable of simultaneous nitrification and denitrification for application to industrial wastewater treatment. *Biochemical Engineering Journal* 41; 59-66.
- Mine Environment Neutral Drainage (MEND), 2014. Study to identify best available technologies economically achievable (BATEA) for the management and control of effluent quality from mines. Report 3.50.1, HATCH, Mississauga, ON, Canada.
- Novak D., Franke-Whittle I. H., Pirc E. T., Jerman V., Insam H., Logar R. M., Stres B., 2013. Biotic and abiotic processes contribute to successful anaerobic degradation of cyanide by UASB reactor biomass treating brewery waste water. *Water Research* 47; 3644-3653.
- Oulego P., Collado S., Laca Díaz A. M., 2014. Simultaneous oxidation of cyanide and thiocyanate at high pressure and temperature. *Journal of Hazardous Materials* 280; 570-578.
- Shao S., Qu F., Liang H., Chang H., Yu H., Li G., 2016. A pilot-scale study of a powdered activated carbon-membrane bioreactor for the treatment of water with a high concentration of ammonia. *Environmental Science: Water Research & Technology* 2; 125-133.
- Smith V. H., Tilman G. D., Nekola J. C., 1999. Eutrophication: impacts of excess nutrient inputs on freshwater, marine, and terrestrial ecosystems. *Environmental Pollution* 100; 179-196.
- Villemur R., Juteau P., Bougie V., Ménard J., Déziel E., 2015. Development of four-stage moving bed biofilm reactor train with a pre-denitrification configuration for the removal of thiocyanate and cyanate. *Bioresource Technology* 181; 254-262.

Walters E., Hille A., He M., Ochmann C., Horn H., 2009. Simultaneous nitrification/denitrification in a biofilm airlift suspension (BAS) reactor with biodegradable carrier material. *Water Research* 43; 4461-4468.

Wang J., Peng Y., Wang S., Gao Y., 2008. Nitrogen removal by simultaneous nitrification and denitrification via nitrite in a sequence hybrid biological reactor. *Chinese Journal of Chemical Engineering* 16; 778-784.

Watts M. P., Moreau J. W., 2016. New insights into the genetic and metabolic diversity of thiocyanate-degrading microbial consortia. *Applied Microbiology and Biotechnology* 100; 1101-1108.

Yan X., Han Y., Li Q., Sun J., Su X., 2016. Impact of internal recycle ratio on nitrous oxide generation from anaerobic/anoxic/oxic biological nitrogen removal process. *Biochemical Engineering Journal* 106; 11-18.

Zaitsev G., Mettänen T., Langwaldt J., 2008. Removal of ammonium and nitrate from cold inorganic mine water by fixed-bed biofilm reactors. *Mineral Engineering* 21; 10-15.

Zhang L., Lee Y., Jahng D., 2012. Ammonia stripping for enhanced biomethanization of piggery wastewater. *Journal of Hazardous Materials* 199-200; 36-42.



## CHAPITRE 6 DISCUSSION DES RÉSULTATS

Le but du chapitre 6 est de discuter brièvement les résultats obtenus en batch, en fed-batch et avec écoulement. A noter que plus de détails ont été fournis aux chapitres 4 et 5. Cette comparaison permettra de mieux comprendre l'effet de l'échelle et du débit sur l'efficacité de dénitrification (essais batch vs. essais fed-batch vs. le système pilote de nitrification-dénitrification avec écoulement). Les mélanges des essais préliminaires concernés sont les suivants: S5 (MeOH + NO<sub>3</sub><sup>-</sup>), S6 (MeOH+NO<sub>3</sub><sup>-</sup>), S7 (EtOH + NO<sub>2</sub><sup>-</sup>), S8 (EtOH + NO<sub>3</sub><sup>-</sup>), S9 (SCN<sup>-</sup> + NO<sub>2</sub><sup>-</sup>), S10 (SCN<sup>-</sup> + NO<sub>3</sub><sup>-</sup>), S11 (NH<sub>3</sub> + NO<sub>2</sub><sup>-</sup>) et S12 (NH<sub>3</sub> + NO<sub>3</sub><sup>-</sup>). Les quatre autres mélanges, utilisant le BI et le BP dans les essais en batch et fed-batch, n'ont pas d'homologue dans les essais avec écoulement et ne seront donc pas traités dans ce chapitre. Pour ce faire, les similitudes opérationnelles (i.e. source de carbone, accepteurs d'électrons) et les efficacités de dénitrification des systèmes seront retracées. Les paramètres physico-chimiques (pH, POR, et OD) seront d'abord comparés, suivis par la discussion des efficacités de traitement des effluents testés (synthétiques et réels).

### 6.1 Comparaison des paramètres physicochimiques

Le pH, POR et OD sont des paramètres clés dans la stabilité et le maintien de l'efficacité du processus de dénitrification biologique (Jermakka et al., 2015). Pour tous les essais, le pH était dans l'intervalle optimal pour la dénitrification (6 à 9), bien que la correction/maintien du pH n'était pas faite de la même manière en fed-batch et en continu. Les variations du pH ont été minimales dans tous les essais (0,1 à 0,7). Pour l'OD, le pilote en continu a montré une meilleure efficacité dans le maintien des conditions anoxiques. En effet, l'OD dans les réacteurs de pré-dénitrification et de post-dénitrification était de  $0,5 \pm 0,2$  et de  $0,5 \pm 0,3$  mg O<sub>2</sub>/L, respectivement. Par ailleurs, pour les mélanges S5 à S12, les conditions anoxiques étaient moins favorisées par des concentrations d'OD variant entre  $1,2 \pm 0,6$  et  $3,1 \pm 1,6$  mg O<sub>2</sub>/L. Les mélanges utilisant le méthanol et l'éthanol comme source de carbone ont été plus efficaces dans le maintien des conditions anoxiques, avec des valeurs d'OD qui ne dépassaient pas  $1,5 \pm 0,2$  mg O<sub>2</sub>/L. Par ailleurs, les mélanges utilisant les SCN<sup>-</sup> ont montré les concentrations en OD les plus élevées ( $3,1 \pm 1,6$  mg O<sub>2</sub>/L et  $2,8 \pm 0,7$  mg O<sub>2</sub>/L, respectivement, pour S9 et S10). Pour les mesures de POR, les conditions réductrices ont été

maintenues dans tous les essais, sauf pour le bac de pré-dénitrification à des HRT de 5,5 heures. Une augmentation du HRT à 8,8 heures a réduit le POR de 94 à -28 mV. Pour résumer, les conditions opératoires de pH, POR et OD ont été favorables pour la dénitrification dans la plupart des réacteurs et consistantes avec celles retrouvées dans d'autres études (Dapena-Mora et al., 2004 ; Isaka et al., 2008 ; Kim et al., 2008 ; Kim et al., 2011 ; Dale et al., 2015).

## 6.2 Comparaison de l'efficacité de dénitrification

La comparaison des mélanges S9, S10, S11 et S12 (essais batch et fed-batch) avec le bac de pré-dénitrification du pilote et des mélanges S5 et S6 (essais batch et fed-batch) avec le bac de post-dénitrification du pilote sera présentée dans ce qui suit.

Le processus de dénitrification dans le bac de pré-dénitrification du pilote continu est complexe. Les substrats disponibles pour la dénitrification dans ce cas sont les suivants : les  $\text{SCN}^-$  (source de carbone minérale), le COD (issu de la lyse des bactéries et des  $\text{SCN}^-$ ), les  $\text{N-NH}_3$ , les  $\text{NO}_2^-$  et les  $\text{NO}_3^-$ . Il est donc difficile de trancher sur la voie métabolique de dénitrification majoritaire (plus de détails ont été fournis dans la revue bibliographique sur les réactions métaboliques possibles pour la dénitrification). En se basant sur les données brutes recueillies lors des essais, l'efficacité d'enlèvement des  $\text{SCN}^-$  en batch a été >99% utilisant les  $\text{NO}_2^-$  (S9) comme accepteur d'électrons, alors que pour le  $\text{NO}_3^-$  (S10) cette efficacité n'était que de 68%. L'efficacité de dénitrification par le  $\text{SCN}^-$  en batch a été de 93% (S9) et de 81% (S10). Cette efficacité a diminué ensuite à moins de 45% (S9) et à zéro (S10). De plus, pour la dénitrification par le  $\text{N-NH}_3$ , l'efficacité en batch a été de 77% (S11) et 83% (S12) et a diminué en fed-batch à des valeurs entre 25 et 45% (S11) et entre 11 et 40% (S12). En intégrant toutes ces données de batch et de fed-batch, la dénitrification par les  $\text{NO}_2^-$  semble plus efficace par rapport au  $\text{NO}_3^-$  et ce pour les  $\text{SCN}^-$  aussi bien que pour les  $\text{N-NH}_3$  comme source d'énergie. Pour le bac de pré-dénitrification du pilote, les mécanismes d'enlèvement des  $\text{SCN}^-$  ont été différents. Une première étape de traitement est due à la dilution engendrée par la recirculation de l'effluent dans le montage, ce qui a permis de réduire la charge en  $\text{SCN}^-$  à traiter par le système. Ces résultats sont consistants avec ceux retrouvés par Villemur et al. (2015) utilisant la même boue de LaRonde sur un effluent synthétique de  $\text{SCN}^-$  ( $115 \pm 32$  mg/L). La réduction théorique moyenne de la charge a été de 29% dans le bac de pré-dénitrification du système pilote

(de 435 mg/L à 310 mg/L) et l'enlèvement réel moyen des  $\text{SCN}^-$  a été de 34%. Cet enlèvement a été accompagné par une augmentation dans la concentration des  $\text{N-NH}_3$ , ce qui confirme la dégradation des  $\text{SCN}^-$ . L'efficacité de dénitrification dans ce bac a été de 47% pour un TRH de 5,5 heures et a atteint 95% pour les  $\text{TRH} \geq 8$  heures. Une autre étude a montré que, dans un effluent synthétique, les  $\text{SCN}^-$  sont oxydés par les boues de la mine LaRonde à des  $\text{TRH} > 10$  heures et que la recirculation diminue la charge polluante à traiter résultant en une efficacité de 62,6% (avec recirculation) vs. 38,5% (sans recirculation ; Villemur et al., 2015). De plus, les essais en batch et en fed-batch ont montré que la dénitrification a été plus efficace par le  $\text{N-NH}_3$  que par les  $\text{SCN}^-$ . Ceci pourrait expliquer donc le déroulement du faible processus de dénitrification biologique dans ce premier bac du système pilote : le  $\text{N-NH}_3$  issu de l'oxydation des  $\text{SCN}^-$  dans le bac de pré-dénitrification a été utilisé comme source d'énergie par les bactéries contenues dans les boues de LaRonde via l'approche Anammox. Cependant, les fortes concentrations  $\text{N-NH}_3$  et de  $\text{NO}_3^-$  pourront limiter l'efficacité de ce processus.

Pour le processus de dénitrification dans le bac de post-dénitrification du pilote, la complexité métabolique est moindre. L'ajout du méthanol a été fait pour assurer une dénitrification par le carbone organique, alors que les  $\text{SCN}^-$  sont déjà presque totalement dégradés dans les étapes précédentes (enlèvement  $> 97\%$ ). Les  $\text{NO}_3^-$  sont enlevés à plus de 80% pour tous les TRH avec la meilleure efficacité de 96%, à un TRH de 14-13 heures/bac. L'efficacité de dénitrification par le méthanol a été  $> 99\%$ , pour les essais en batch (mélanges S5 et S6), et a été maintenue aussi en fed-batch ( $> 93\%$  pour S5 et  $> 86\%$  pour S6). Encore une fois, la dénitrification utilisant les  $\text{NO}_2^-$  est beaucoup plus efficace que celle utilisant le  $\text{NO}_3^-$ . De plus, la dénitrification par l'éthanol a été peu efficace, surtout dans les essais en fed-batch (en batch : 78% pour S7 et 92% pour S8, en fed-batch : 18% pour S7 et 42% pour S8). Enfin, un dernier désavantage majeur de l'éthanol est le coût plus important comparativement au méthanol (compétitivité du secteur médical), il serait donc moins pertinent d'envisager un pilote de dénitrification par l'éthanol.

## CHAPITRE 7 CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS

L'objectif de cette étude visait à trouver des approches pour améliorer l'efficacité de traitement des composés azotés dans les effluents des mines d'or (cas de la mine LaRonde), à savoir les  $\text{SCN}^-$ , le  $\text{N-NH}_3$ , les  $\text{NO}_2^-$  et les  $\text{NO}_3^-$ . Pour ce faire, une approche de dénitrification biologique des effluents des mines d'or à l'échelle du laboratoire a été développée. D'abord, des essais batch de dénitrification avec un effluent synthétique et en utilisant les boues échantillonnées de la mine LaRonde ont été réalisés selon trois approches différentes, en variant la source d'énergie [carbone minéral ( $\text{SCN}^-$ ), carbone organique (éthanol, méthanol, BI et BP) et  $\text{N-NH}_3$  (Anammox)] et l'accepteur d'électrons ( $\text{NO}_2^-$  ou les  $\text{NO}_3^-$ ). Ces essais en batch d'une durée d'un mois ont montré une bonne efficacité d'enlèvement des composés azotés avec tous les scénarios testés et donc une présence d'une activité dénitrifiante dans les boues de la mine. La meilleure efficacité de dénitrification en batch (>99 %) a été trouvée avec le méthanol comme source de carbone et le  $\text{NO}_2^-$  et  $\text{NO}_3^-$  comme accepteurs d'électrons. La moindre efficacité de dénitrification en batch (78%) a été trouvée pour l'éthanol comme source de carbone et  $\text{NO}_2^-$  comme accepteur d'électrons. Les autres mélanges ont eu une efficacité entre 80% et 96%, ce qui demeure satisfaisant. Ensuite, des essais en fed-batch ont été réalisés. Les efficacités ont beaucoup changé pour la plupart des mélanges sauf pour ceux avec le méthanol qui ont maintenu une efficacité >93% (avec le  $\text{NO}_2^-$ ) et entre 88% et 90% (avec le  $\text{NO}_3^-$ ). Ceci a permis de le sélectionner comme une alternative de dénitrification pour les essais avec écoulement. De plus, le choix de la deuxième alternative de dénitrification a été fait avec l'approche utilisant le  $\text{SCN}^-$  comme source de carbone minéral malgré sa faible efficacité de dénitrification avec le  $\text{NO}_2^-$  (efficacité réduite de >80% lors du 1<sup>er</sup> cycle de fed-batch à 42% en fin de l'essai) et son absence avec le  $\text{NO}_3^-$ . Ce choix a été basé surtout sur l'abondance de ce contaminant dans l'effluent minier à traiter, ce qui permettra de jouer un rôle de prétraitement pour la dénitrification.

Par la suite, des essais avec écoulement ont été réalisés en utilisant un montage alternant une pré-dénitrification par les  $\text{SCN}^-$ , une nitrification et une post-dénitrification par le méthanol à différents TRH et facteurs de dilution. La meilleure efficacité de dénitrification a été observée pour un TRH de 8.3 heures/bac donnant ainsi une dénitrification par les  $\text{SCN}^-$  >89% et une dénitrification par le méthanol >96%. Par ailleurs, les TRH et la dilution due au recyclage avaient

une influence directe sur cette efficacité. En effet, la diminution du TRH ( $< 6$  h/bac) par augmentation du débit a causé une chute dans l'efficacité de dénitrification (61%) dans le bac de pré-dénitrification et a engendré aussi une instabilité dans l'enlèvement des  $\text{NO}_3^-$  dans le bac de post-dénitrification (concentration résiduelle variant entre 0 et 86 mg/L de  $\text{NO}_3^-$ ). L'augmentation du TRH (TRH  $> 8$  h/bac) a permis par la suite de regagner dans l'efficacité de dénitrification. Ceci nous amène donc à conclure que la dénitrification des effluents des mines d'or, spécifiquement l'effluent de la mine LaRonde, est possible à l'échelle de laboratoire. Lors des essais avec écoulement, la dénitrification par le méthanol était l'étape principale du traitement. L'enlèvement de la pollution azotée par dénitrification utilisant le  $\text{SCN}^-$  (la pré-dénitrification) est majoritairement un prétraitement par dilution qui est due à la recirculation de l'effluent et la dénitrification biologique autotrophe est faible. Cette conclusion met en question l'efficacité de ce système de dénitrification à plus grande échelle et à plus fort débit.

Le développement d'une approche de dénitrification des effluents des mines d'or a été bien réussi à échelle de laboratoire aboutissant à un pilote traitant 100 L d'effluent réel de la mine LaRonde. Avant de réaliser des essais à plus grande échelle, des travaux supplémentaires devront être réalisés :

- Pour les essais en batch et en fed-batch :
  - ✓ La reprise des essais avec une température supérieure à  $20^\circ\text{C}$  pourrait offrir une comparaison de l'effet de la température sur l'efficacité de dénitrification et améliorer les résultats obtenus pour tous les mélanges ;
  - ✓ Une mesure de la concentration résiduelle du méthanol et de l'éthanol pourrait donner une information plus complète sur la consommation de ces substrats par la biomasse ;
  - ✓ Une mesure de COD pourrait permettre d'évaluer la capacité du BI et du BP à se dissoudre et ainsi fournir un carbone organique disponible aux bactéries hétérotrophes pour la dénitrification.

- Pour l'essai du système pilote avec écoulement :
  - ✓ Une caractérisation microbiologique des boues anaérobies (en cours) dans le bac de pré-dénitrification et de post-dénitrification pourrait permettre de trancher sur le(s) processus bactérien(s) de dénitrification qui se déroule(nt) dans chaque bac ;
  - ✓ Une étude technico-économique (en cours) permettrait de justifier la rentabilité de l'utilisation de l'étape de pré-dénitrification par le  $\text{SCN}^-$  ainsi que le choix du méthanol au lieu de l'éthanol comme source de carbone organique pour l'étape de post-dénitrification ;
  - ✓ Un suivi sur une durée plus longue pourrait améliorer l'efficacité de dénitrification suite à l'adaptation des boues aux conditions opératoires et suite à la croissance bactérienne ;
  - ✓ Un contrôle de température pourrait aussi jouer un rôle important dans le maintien d'une bonne efficacité de dénitrification ;
  - ✓ Une modification du système afin de recirculer les  $\text{NO}_2^-$  au lieu des  $\text{NO}_3^-$  pourrait améliorer l'efficacité de dénitrification par les  $\text{SCN}^-$  ;
  - ✓ Une mesure de la composition du gaz produit tout au long de l'essai de dénitrification en continue pourrait aussi donner une meilleure compréhension du bilan d'azote et bien mettre au point le déroulement de la dénitrification.

## BIBLIOGRAPHIE

- Acheampong M. A., Meulepas R. J. W., Lens P. N. L., 2009. Removal of heavy metals and cyanide from gold mine wastewater. *Society of Chemical Industry* 85; 590-613.
- Ahn Y. H., Choi H. C., 2006. Autotrophic nitrogen removal from sludge digester liquids in upflow sludge bed reactor with external aeration. *Process Biochemistry* 41; 1945-1950.
- Alvarez R. S., Cardoso R. B., Salazar M., Gomez J., Flores E. R., Field J. A., 2007. Chemolithotrophic denitrification with elemental sulfur for groundwater treatment. *Water Research* 41; 1253-1262.
- Alvarez R., Ordóñez A., Loredó J., Younger P.L., 2013. Wetland-based passive treatment systems for gold ore processing effluents containing residual cyanide, metals and nitrogen species. *Environmental Science: Processes & Impacts* 15 ; 2115-2124.
- Alvez-Rogel J., Jiménez-Carceles F. J., Egea-Nicolas C., 2006. Phosphorus and nitrogen content in the water of a coastal wetland in the Mar Menor Lagoon (SE Spain): relationships with effluents from urban and agricultural areas. *Water, Air and Soil Pollution* 173; 21-38.
- American Public Health Association (APHA), 2012. Standard methods for the examination of water and wastewater (21th ed.). Washington, DC, USA.
- An Y., Yang F., Chua H. C., Wong F. S., Wu B., 2008. The integration of methanogenesis with shortcut nitrification and denitrification in a combined UASB with MBR. *Bioresource Technology* 99; 3714-3720.
- Andrade do Canto C. S., Rodrigues J. A. D., Ratusznei S. M., Zaiat M., Foresti E., 2008. Feasibility of nitrification-denitrification in a sequencing batch biofilm reactor with liquid circulation applied to post-treatment. *Bioresource Technology* 99; 644-654.
- Ashok V., Hait S., 2015. Remediation of nitrate-contaminated water by solid-phase denitrification process—a review. *Environmental Science and Pollution Research* 22; 8075–8093.
- Authonisen A. C., Loehr R. C., Praksam T. B. S., Srinath E. G., 1976. Inhibition of nitrification by ammonia and nitrous acid. *Journal of Water Pollution Control Federation* 48; 835-852.

- Bastviken S. K., Eriksson P. G., Martins I., Neto J. M., Leonardson L., Tondersk, K., 2003. Potential nitrification and denitrification on different surfaces in a constructed treatment wetland. *Journal of Environmental Quality* 32 ; 2414–2420.
- Bhunia F., Saha N. C., Kaviraj A., 2000. Toxicity of thiocyanate to fish, plankton, worm, and aquatic ecosystem. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 64; 197-204.
- Bhuvanesh S., Maneesh N., Sreekrishnan T. R., 2013. Start-up and performance of a hybrid anoxic reactor for biological denitrification. *Bioresource Technology* 129;78–84.
- Biggar K. W., Donahue R., Sego D., Johnson, M., Birch S., 2005. Spray freezing decontamination of tailings water at the Colomac Mine. *Cold Regions Science and Technology* 42; 106-119.
- Botz, M.M., Mudder, T.I., Akcil, A.U., 2005. Cyanide treatment: Physical, chemical and biological process. *Developments in Mineral Processing* 15; 672-702.
- Bouslimi B., Koubaa A., Bergeron Y., 2013. Variation of brown rot decay in eastern white cedar (*Thuja occidentalis* L.). *BioResources* 8; 4735-4755.
- Bouslimi B., Koubaa A., Bergeron Y., 2014. Effects of biodegradation by brown-rot decay on selected wood properties in eastern white cedar (*Thuja occidentalis* L.). *International Biodeterioration & Biodegradation* 87; 87-98.
- Boxer G. E., Rickards J. C., 1952. Determination of traces of hydrogen cyanide in respiratory air. *Archives of Biochemistry & Biophysics* 39; 287-291.
- Bownik, A., 2010. Harmful algae: effects of alkaloid cyanotoxins on animal and human health. *Toxin Reviews* 29; 99-114.
- Cardoso R. B., Sieraa-Alvarez R., Rowlette P., Flores E. R., Gomez J., Field J. A., 2006. Sulfide oxidation under chemolithotrophic denitrifying conditions. *Biotechnology & Bioengineering* 95; 1148-1157.
- Centre d'Expertise en Analyse Environnementale du Quebec (CEAEQ), 2014. Détermination des anions : méthode par chromatographie ionique, MA. 300-Ions 1.3, Rév. 3 (in French), Ministère du Développement Durable, de l'Environnement et de la Lutte contre les Changements Climatiques du Quebec, QC, Canada.



- Chen S., Ling J., Blancheton J. P., 2006. Nitrification kinetics of biofilm as affected by water quality factors. *Aquacultural Engineering* 34; 2555-2560.
- Chen Z., Wang X., Yang Y., Mirino M. W., Yuan Y., 2016. Partial nitrification and denitrification of mature landfill leachate using a pilot-scale continuous activated sludge process at low dissolved oxygen. *Bioresource Technology* 218; 580-588.
- Choubert J. M., 2002. Thèse : Analyse et optimisation du traitement de l'azote par les boues actives à basse temperature. Ecole Doctorale Sciences Pour l'Ingénieur, N° d'ordre : 4090. Bordeaux, France.
- Csikai N. J., Barnard J. R., 1983. Determination of total cyanide in thiocyanate-containing waste water. *Analytical Chemistry* 55; 1677-1682.
- Dapena-Mora A., Campos J. L., Mosquera-Corral A., Mendez R. J., 2004. Stability of the Anammox process in a gas-lift reactor and a SBR. *Biotechnology* 110; 159-170.
- Davedova I., Hicks M. S., Fedorak P. M., Sulfitia J. M., 2001. The influence of nitrate on microbial processes in oil industry production waters. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology* 27; 80-86.
- Demin O. A., Dudeney A. W. L., Tarasova I. I., 2002. Remediation of ammonia-rich minewater in constructed wetlands. *Environmental Technology* 23; 497-514.
- Duca M., Koper M., 2012. Powering denitrification: the perspectives of electrocatalytic nitrate reduction. *Energy & Environmental Science* 5; 9726-9742.
- Essam T., ElRakaiby M., Agha A., 2014. Remediation of the effect of adding cyanides on an algal/bacterial treatment of a mixture of organic pollutants in a continuous photobioreactor. *Biotechnology Letters* 36; 1773-1781.
- Fernandez-Nava Y., Marafion E., Soons J., Castrillon L., 2010. Denitrification of high nitrate concentration wastewater using alternative carbon sources. *Journal of Hazardous Materials* 173; 682-688.
- Foresberg H., Akerlund H., 1999. Nitrogen and the residues of explosives in ore-, waste rock- and production flows of LKAB. M. Sc. Thesis. Lulea University, Luulaja.

- Frandsen S., Widerlund A., Herbert R. B., Öhlander B., 2009. Nitrogen effluents from mine sites in northern Sweden-environmental effects and removal of nitrogen in recipients. Securing the Future and 8th ICARD. June 23-26, Skellefteå, Sweden.
- Gadekar S., Nemati M., Hill G. A., 2006. Batch and continuous biooxidation of sulphide by *Thiomicrospira* sp. CVO: Reaction kinetics and stoichiometry. *Water Research* 40; 2436-2446.
- Gibert O., Pomierny S., Rowe I., Kalin R. M., 2008. Selection of organic substrates as potential reactive materials for use in a denitrification permeable reactive barrier (PRB). *Bioresource Technology* 99, 7587–7596.
- Given B., Meyer S., 1998. Biological treatment of tailings solution at the Nickel Plate Mine. In: proceedings of the 22nd annual British Columbia mine reclamation symposium, Penticton, British Columbia, 157-171.
- Gonzalez-Merchan C., Genty T., Bussière B., Potvin R., Paquin M., Benhammadi M., Neculita C. M., 2016. Ferrates performance in thiocyanates and ammonia degradation in gold mine effluents. *Minerals Engineering* 95; 124-130.
- Gould D. W., King M., Mohapatra B. R., Cameron R. A., Kappor A., Koren D. W., 2012. A critical review on destruction of thiocyanate in mining effluents. *Mineral Engineering* 34; 38-47.
- Green M., Friedler E., Ruskol Y., Safrai I., 1997. Investigation of alternative method for nitrification in constructed wetlands. *Water Science & Technology* 35; 63-70.
- Hang Q., Wang H., Chu Z., Ye B., Li C., Hou Z., 2016. Application of plant carbon source for denitrification by constructed wetland and bioreactor: review of recent development. *Environmental Science & Pollution Research* 23; 8260–8274.
- Hayrynen K., Langwaldt J., Pongracz E., Vaisanen V., Manttari M., Keiski R. L., 2008. Separation of nutrients from mine water by reverse osmosis for subsequent biological treatment. *Minerals Engineering* 21; 2-9.
- Häyrynen K., Pongrácz E., Väisänen V., Pap N., Mänttari M., Langwaldt J., Keiski R. L., 2009. Concentration of ammonium and nitrate from mine water by reverse osmosis and nanofiltration. *Desalination* 240; 280-289.

- Hefting M. M., Van Den Heuvel R. N., Verhoeven J. T. A., 2012. Wetlands in agricultural landscapes for nitrogen attenuation and biodiversity enhancement: opportunities and limitations. *Ecological Engineering* 37, 693-702.
- Hellinga C., Schellen A. A. J. C., Mulder J. W., Van Loosdrecht M. C. M., Heijnen J. J., 1998. The SHARON process: an innovative method for nitrogen removal from ammonium-rich waste water. *Water Science & Technology* 37; 135-142.
- Hendrickx T., Wang Y., Kampman C., Zeeman G., Temmink H., Buisman C., 2012. Autotrophic nitrogen removal from low strength waste water at low temperature. *Water Resources* 46; 2187-2193.
- Henze M., Harremoës P., La Cour Jansen J., Arvin E., 1995. Wastewater treatment – biological and chemical processes, 383, edited by Springer-Verlag, Berlin.
- Hoang V., Delatolla R., Abujamel T., Mottawea et al., Gadbois A., Laflamme E., Stintzi A., 2014. Nitrifying moving bed biofilm reactor (MBBR) biofilm and biomass response to long term exposure to 1°C. *Water Research* 49; 215-224.
- Holloway R. W., Achilli A., Cath T. Y., 2015. The osmotic membrane bioreactor: a critical review. *Environmental Science: Water Research & Technology* 1; 581-605.
- Huang, H. K., Tseng, S. K., 2001. Nitrate reduction by *Citrobacter diversus* under aerobic environment. *Applied Microbiology & Biotechnology* 55; 90–94.
- Hu Z., Lotti T., De Kreuk M., Kleerebezem R., Loosdrecht M. V., Kruit J., Jetten M. S. M., Kartal B., 2013. Nitrogen removal by a nitrification-Anammox bioreactor at low temperature. *Applied & Environmental Microbiology* 79; 2807-2818.
- Isaka K., Date Y., Sumino T., Tsuneda S., 2008. Nitrogen removal performance using anaerobic ammonium oxidation at low temperatures. *FEMS Microbiology Letters* 282; 32-38.
- Jay A. B., Allan H. D., Curtis D., 2007. New development in the marine nitrogen cycle. *Chemistry Review* 107; 577-589.
- Jermakka J., Wendling L., Sohlberg E., Heinonen H., Vikman M., 2015. Potential technologies for the removal and recovery of nitrogen compounds from mine and quarry waters in subarctic conditions. *Environmental Science & Technology* 45; 703-748.

- Jetten M. S. M., 2008. The microbial nitrogen cycle. *Environmental Microbiology* 10; 2903-2909.
- Ji B., Yang K., Wang H., Zhou J., Zhang H., 2015. Aerobic denitrification by *Pseudomonas stutzeri* C3 incapable of heterotrophic nitrification. *Bioprocess Biosystem Engineering* 38; 407–409.
- Kamp A., Stief P., Schluz-Vogt H. N., 2002. Anaerobic sulphide oxidation with nitrate by denitrification in ground water. *Journal of Environmental Engineering* 128; 491-504.
- Kantor R. S., Zyl A. W., Hille R. P., Thomas B. C., Harrison S. T., Banfield J. F., 2015. Bioreactor microbial ecosystems for thiocyanate and cyanide degradation unravelled with genome-resolved metagenomics. *Environmental Microbiology* 17; 4929-4941.
- Karkman A., Mattila M., Virta M., 2011. Cold temperature decreases bacterial species richness in nitrogen-removing bioreactors treating inorganic mine waters. *Biotechnology & Bioengineering* 108; 2876-2883.
- Kartal B., Rattray J., Van Nitric L., Van De Vosenberg J., Schmid M. C., Web R. J., Schoutten S., Furest J. A., Demastel J. S., Jetten M. S. M., Strous M., 2007. *Candidatus "Anammoxoglobus propionicus"* a new propionate oxidizing species of anaerobic ammonium oxidizing bacteria. *Systematic & Applied Microbiology* 30; 39-49.
- Kartal B., Van Nitrik L., Siekens O., Schmid M. C., Schmid T., Van De Pas-Schoonen K., Cupus I., Van De Star W., Van Loosdrecht M., Ahma W., Kuenen J. G., Mudler J. W., Jetten M. S. M., Op Den Camp H., Strous M., Van De Voanberg J., 2004. Application, eco-physiology and biodiversity of anaerobic ammonium-oxidizing bacteria. *Reviews in Environmental Science & Biotechnology* 3; 255-264.
- Kim Y. M., Cho H. U., Lee D. S., Park C., Park D., Park J. M., 2011. Response of nitrifying bacterial communities to the increased thiocyanate concentration in pre-denitrification process. *Bioresource Technology* 102; 913-922.
- Kim S. S., Kim, H. J., 2003. Impact and threshold concentration of toxic materials in the stripped gas liquor on the nitrification. *Korean Journal of Chemical Engineering* 20; 1103–1110.
- Kim Y. M., Park D., Lee D. S., Park J. M., 2008. Inhibitory effects of toxic compounds on nitrification process for cokes wastewater treatment. *Journal of Hazardous Materials* 152; 915–921.

- Koenig A., Zhang T., Liu L. H., Fang H. P., 2005. Microbial community and biochemistry process in autotrophic denitrifying biofilm. *Chemosphere* 58; 1040–1047.
- Koop H. P., Bottcher B., Moller U. C., Stehr G., 1991. Classification of eight new species of ammonia-oxidizing bacteria. *Journal of General Microbiology* 137; 1689-1699.
- Komorowska-Kaufman M., Majcherek H., Klaczynski E., 2006. Factors affecting the biological nitrogen removal from wastewater. *Process Biochemistry* 41; 1015-1021.
- Koren D. W., Gould W. D., Bédard P., 2000. Biological removal of ammonia and nitrite from simulated mine and mill effluents. *Hydrometallurgy* 56; 127-144.
- Kumaran P., Shivaraman A. W., 1986. Microbial cyanide metabolism. *Advances in Microbial Physiology* 27; 73-109.
- Kupers M. M. M., Sliemers A. O., Lavik G., Schimidt M., Jorgensen B. B., Kuenen J. G., Siminghe D. J. S., Strons M., Jetten M. S. M., 2003. Anaerobic ammonium oxidation by Anammox bacteria in the Black Sea. *Nature* 422; 608-611.
- Lackner S., Gilbert E. M., Vlaeminck S. E., Joss A., Horn H., Van Loosdrecht M. C., 2014. Full-scale partial nitrification/anammox experiences—an application survey. *Water Research* 55; 292-303.
- Laporte P., 2015. Evolution à la mine LaRonde du traitement biologique du thiocyanate. Symposium 2015 sur l'environnement et les mines, Rouyn-Noranda.
- Lavoie P., Bérubé S., Bougie V., Juteau P., 2008. La mise en route d'une usine biologique dans le domaine minier.
- Lay-Son M., Drakies C., 2008. New approach to optimize operational conditions for the biological treatment of high-strength thiocyanate and ammonium waste: pH as key factor. *Water Research* 42; 774-780.
- Lee N. M., Welander T., 1996. The effect of different carbon sources on respiratory denitrification in biological wastewater treatment. *Journal of Fermentation & Bioengineering* 82; 277-285.
- Li W., Zhao Q. L., Liu H., 2009. Sulfide removal by simultaneous autotrophic and heterotrophic desulfurization-denitrification process. *Journal of Hazardous Materials* 162; 848-853.

- Lotter N., 2006. Cyanide volatilisation from gold leaching operations and tailing storage facilities. Mémoire maîtrise, Université de Pretoria, 164 pages.
- Lotti T., Kleerebezem R., Hu Z., Kartal B., Jetten M. S. M., 2014. Simultaneous partial nitrification and Anammox at low temperature with granular sludge. *Water Research* 66; 111-121.
- Lu L., Cheng H., Pu X., Liu X., Cheng Q., 2015. Nitrate behaviors and source apportionment in an aquatic system from a watershed with intensive agricultural activities. *Environmental Science: Processes & Impacts* 17; 131-144.
- Madaeni S. S., Koocheki S., 2010. Influence of di-hydrogen phosphate ion on performance of polyamide reverse osmosis membrane for nitrate and nitrite removal. *Journal of Porous Materials* 17; 163-168.
- Marin J. C. A., Caravelli A. H., Zaritzky N. E., 2016. Nitrification and aerobic denitrification in anoxic-aerobic sequencing batch reactor. *Bioresource Technology* 200; 380-387.
- Météo Média, 2016. Statistiques météo (<https://www.meteomedia.com/previsions/statistics/CAQC0363> ; site consulté le 06 octobre 2016).
- Miao L., Wang K., Wang S., Zhu R., Li B., Peng Y., Weng D., 2014. Advanced nitrogen removal from landfill leachate using real-time controlled three-stage sequence batch (SBR) system. *Bioresource Technology* 158; 258-265.
- Michel R., 1985. Métallurgie de l'or. *Techniques de l'Ingénieur* M2384; 1-7.
- Mine Environment Neutral Drainage (MEND), 2014. Study to identify best available technologies economically achievable (BATEA) for the management and control of effluent quality from mines. Report 3.50.1, HATCH, Mississauga, ON, Canada.
- Ministère de la Justice, 2015. Règlement sur les effluents des mines de métaux (REMM). DORS/2002-222. Gouvernement du Canada.
- Ministère du Développement Durable, de l'Environnement et Lutte Contre les Changements Climatiques (MDDELCCC; 2012). Directive 019 sur l'industrie minière. Gouvernement du Québec.
- MIN3313, 2008. Cours d'environnement et gestion des rejets miniers. Responsable du cours : Gérald Zagury. Ecole Polytechnique Montréal.

- Miyahara M., Kim S. W., Fushinobu S., Takaki K., Yamada T., Watanabe A., Miyauchi K., Endo G., Wakagi T., Shoun H., 2010. Potential of aerobic denitrification by *Pseudomonas stutzeri* TR2 to reduce nitrous oxide emissions from wastewater treatment plants. *Applied Environmental Microbiology* 76; 4619–4625.
- Mook W. T., Chakrabarti M. H., Aroua M. K., Khan G. M. A., Ali B. S., Islam M. S., Abu Hassan M. A., 2012. Removal of total ammonia nitrogen (TAN), nitrate and total organic carbon (TOC) from aquaculture wastewater using electrochemical technology: A review. *Desalinisation* 285; 1-13.
- Morita M., Uemoto H., Watanabe A., 2008. Nitrogen-removal bioreactor capable of simultaneous nitrification and denitrification from application to industrial wastewater treatment. *Biochemical Engineering* 41; 59-66.
- Mudder T. I., Botz M. M., Smith A., 2001. *Chemistry and Treatment of Cyanidation Wastes (CTCW)* 2nd edition. Mining Journal Books LTD, London.
- Naik S. S., Setty Y. P., 2011. Biological denitrification of wastewater in a fluidized bed bioreactor by immobilization of *Pseudomonas Stutzeri* using polypropylene granules. *International Journal of Biotechnology Applications* 3; 106–109.
- Nemati M., Jenneman G. E., Voordouw G., 2001. Impact of nitrite-mediated microbial control of souring in oil reservoirs on the extent of corrosion. *Biotechnology Progress* 17; 852-859.
- Novak D., Franke-Whittle I. H., Pirc E. T., Jerman V., Insam H., Logar R. M., Stres B., 2013. Biotic and abiotic processes contribute to successful anaerobic degradation of cyanide by UASB reactor biomass treating brewery waste water. *Water Research* 47; 3644-3653.
- Nozhevnikova A. N., Simankova M. V., Litt YU. V., 2012. Application of the microbial process of anaerobic ammonium oxidation (Anammox) in biotechnological wastewater treatment. *Applied Biochemistry & Microbiology* 48; 667-684.
- Ødegaard H., Herbel M., Switzer B. J., Langley S., Beveridge T., Ajayan P., Ellis A. V., Curran S., 2004. Structural and spectral features of selenium nanospheres produced by Se-Respiring. *Applied & Environmental Microbiology* 70; 52-60.
- Ødegaard H., Rusten B., Westrum T., 1994. The development of the moving biofilm reactor – applications and results. *Water Science & Technology* 29; 157-165.

- Oulego P., Collado S., Laca Díaz A. M., 2014. Simultaneous oxidation of cyanide and thiocyanate at high pressure and temperature. *Journal of Hazardous Materials* 280; 570-578.
- Painter H. A., 1986. Nitrification in the treatment of sewage and wastewater. In: Prosser JI (Ed) *Nitrification*, 185-211. IRL Press Ltd, Oxford.
- Paruchuri, Y. L., Shivarman N., Kumaran P., 1990. Microbial transformation of thiocyanate. *Environmental Pollution* 68; 15-28.
- Pines K. L., Crymble M. M., 1952. In vitro conversion of thiocyanate to cyanide in the presence of erythrocytes. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine* 81; 160-163.
- Patureau D., Godon J. J., Dabert P., Bouchez T., Bernet N., Delgenes J. P., Moletta R., 1998. *Microvirgula aerodenitrificans* gen. nov., sp. nov., a new gram-negative bacterium exhibiting co-respiration of oxygen and nitrogen oxides up to oxygen-saturated conditions. *International Journal of Systematic & Evolutionary Microbiology* 48; 775–782.
- Risgaard-Peterson N., Meyer R. L., Schmid M., Jetten M. S. M., Enrich-Prast A., Rysgaard S., Revesbech N. P., 2004. Anaerobic ammonia oxidation in an estuarine sediment. *Aquatic Microbial Ecology* 36; 293-304.
- Roger B., Herbert J., Winbjork H., Hellman M., Hallin S., 2014. Nitrogen removal and spatial distribution of denitrifier and Anammox communities in a bioreactor for mine drainage treatment. *Water Research* 66; 350-360.
- Ruiz G., Jeison D., Rubilar O., Ciudad G., Chamy R., 2006. Nitrification-denitrification via nitrite accumulation for nitrogen removal from wastewaters. *Bioresource Technology* 97; 330-335.
- Rysgaard S., Glud R. N., 2004. Anaerobic N<sub>2</sub> production in Arctic sea ice. *Limnology Oceanography* 49; 86–94.
- Schmidt C. A., Clark M. W., 2013. Deciphering and modeling the physicochemical drivers of denitrification rates in bioreactors. *Ecological Engineering* 60; 276–288.
- Schmid M., Twachtman U., Klein M., Strous M., Juretschenko S., Jetten M., Metzlger J. W., Schleifer K. H., Wagner M., 2000. Molecular evidence for genus level diversity of bacteria



capable of catalyzing anaerobic ammonium oxidation. *Systematic & Applied Microbiology* 23; 93-101.

Schott J. T., McCarthy M. J., Gardner W. S., Doyle R. D., 2008. Denitrification dissimilatory nitrate reduction to ammonium and nitrogen fixation along a nitrate concentration gradient in a created freshwater wetland. *Biogeochemistry* 97; 99-111.

Shao S., Qu F., Liang H., Chang H., Yu H., Li G., 2016. A pilot-scale study of a powdered activated carbon-membrane bioreactor for the treatment of water with a high concentration of ammonia. *Environmental Science: Water Research & Technology* 2; 125-133.

Shrimali S., Singh K. P., 2001. New methods of nitrate removal from water. *Environmental Pollution* 112; 351-359.

Smith V. H., Tilman G. D., Nekola J. C., 1999. Eutrophication: impacts of excess nutrient inputs on freshwater, marine, and terrestrial ecosystems. *Environmental Pollution* 100; 179-196.

Spanjers H., Vanrolleghem P., Olsson G., Doldt P., 1996. Respirometry in control of the activated sludge process. *Water Science & Technology* 34; 117-126.

Stouthamer A. H., 1998. Dissimilatory reduction of oxidized nitrogen compounds. In : Zehner AJB (Ed) *Biology of Anaerobic Microorganisms*. Jhon Wiley & Sons, Inc., New York, 245-303.

Strons M., Kuenen J. C., Jetten M., 1998. The sequencing batch reactor as a powerful tool for the study of the slowly growing anaerobic-ammonium oxidizing microorganisms. *Applied Microbial Biotechnology* 65; 3248-3250.

Strous M., Van Gerven E., Kuenen J. C., Jetten M., 1997. Ammonium removal from concentrated waste streams with the anaerobic ammonia oxidation (Anammox) process in different reactor configurations. *Water Resources* 31; 1955-1962.

Tang K., Baskaran V., Nemati M., 2009. Bacteria of the sulphur cycle: a review of microbiology, biokinetics and their role in petroleum and mining industries. *Biochemical Engineering* 44; 73-94.

Tchobanoglous G., Burton F., Stensel H. D., 2003. *Wastewater Engineering: treatment and reuse*, fourth ed. Metcalf & Eddy, Inc., McGraw-Hill College, New York, page 1819.

- Torrento C., Urmeneta J., Otero N., Soler A., Vinas M., Cama J., 2011. Enhanced denitrification in groundwater and sediments from a nitrate-contaminated aquifer after addition of pyrite. *Chemical Geology* 287; 90–101.
- Trois C., Pisano G., Oxarango L., 2010. Alternative solutions for the biodenitrification of landfill leachates using pine bark and compost. *Journal of Hazardous Material* 178; 1100–1105.
- Tsuahima I., Ogaawara Y., Kindaichi T., Satoh H., Okabe S., 2007. Development of high-rate anaerobic ammonium-oxidizing (Anammox) biofilm reactors. *Water Resources* 41; 1623-1634.
- Van Niftrik L. A., Furest J. A., Damste J. S. S., Kuenen J. G., Jetten M. S. M., Strous M., 2004. The anammoxosome: an intracytoplasmic compartment in Anammox bacteria. *FEMS Microbiology Letters* 233; 7-13.
- Vazquez-Padin J. R., Fernandez I., Morales N., Camps J. L., Mosquera-Corral A., Mendez R., 2001. Autotrophic nitrogen removal at low temperature. *Water Science & Technology* 63; 1282-1288.
- Varquez-Padin J., Fernandez I., Figueroa M., Mosquera-Corral A., 2009. Applications of Anammox based processes to treat anaerobic digester supernatant at room temperature. *Bioresource Technology* 100; 2988-2994.
- Viaopoulou E., Melidis P., Aivasidis A., 2005. Sulphide removal in wastewater from petrochemical industries by autotrophic denitrification. *Water Research* 39 ; 4101-4109.
- Villemur R., Juteau P., Bougie V., Ménard J., Déziel, E., 2015. Development of four-stage moving bed biofilm reactor train with a pre-denitrification configuration for the removal of thiocyanate and cyanate. *Bioresource Technology* 181; 254-262.
- Vymzal J., 2007. Removal of nutrients in various types of constructed wetlands. *Science of the Total Environment* 380; 48-65.
- Walters E., Hille A., He M., Ochmann C., Horn H., 2009. Simultaneous nitrification-denitrification in a biofilm airlift suspension (BAS) reactor with biodegradable carrier material. *Water Research* 43; 4461-4468.

- Wang J., Peng Y., Wang S., Gao Y., 2008. Nitrogen removal by simultaneous nitrification and denitrification via nitrite in a sequence hybrid biological reactor. *Chinese Journal of Chemical Engineering* 16; 778-784.
- Wang Y., Bott C., Nerenberg R., 2016. Sulfur-based denitrification: effect of biofilm development on denitrification fluxes. *Water Research* 100; 184-193.
- Watts M. P., Moreau J. W., 2016. New insights into the genetic and metabolic diversity of thiocyanate-degrading microbial consortia. *Applied Microbiology and Biotechnology* 100; 1101-1108.
- Whitlock K. S., Grondin L., Wagner R., Liu L., 2003. Biological toxicity treatment evaluation of a gold mine effluent. 2003 Sudbury Symposium – Mining and the Environment, page 4.
- Winkler M., 2012. Nutrients : proportions optimales pour le traitement des eaux. Rapport d'application, Analyse de laboratoire & analyse en continu, Traitement des eaux usées, éléments nutritifs. HACH LANGE, DOC040.77.1005Oct12 (consulté le 07 novembre 2016).
- Wisemann U., 1994. Biological nitrogen removal from wastewater. *Advances in Biochemistry Engineering Biotechnology* 51; 113-154.
- Woebken D., Lam P., Kuypers M. M., Naqvi S. W., Kartal B., Strans M., Jetten M. S. M., Fuchs B. M., Amann R., 2008. A microdiversity study of Anammox bacteria reveals a novel *Candidatus Scalindua* phylotype in marine oxygen minimum zones. *Environmental Microbiology* 10; 3106-3119.
- Yamashita T., Yamamoto I. R., Zhu J., 2016. Sulfate-reducing bacteria in a denitrification reactor packed with wood as a carbon source. *Bioresource Technology* 102; 2235–2241.
- Yoo H., Ahn K. H., Lee H., 1998. Nitrogen removal from synthetic wastewater by simultaneous nitrification and denitrification (SND) via nitrite in an intermittently-aerated reactor. *Water Resources* 33; 145-154.
- Zaitsev G., Mettananen T., Langwaldt J., 2008. Removal of ammonium and nitrate from cold inorganic mine water by fixed-bed biofilm. *Minerals Engineering* 21; 10-15.
- Zhang L., Lee Y., and Jahng D., 2012. Ammonia stripping for enhanced biomethanization of piggery wastewater. *Journal of Hazardous Materials* 199; 36–42.

- Zhao J., Zuo J., Li P., Lin J., 2014. The performance of high-loading composite Anammox reactor and its long-term recovery from extreme substrates inhibition. *Bioresource Technology* 172; 50-57.
- Ziye H. Tommaso L., De Kreuk M., Kleerebezem R., Loosdrecht M. V., Kruit J., Jetten M. S. M., Kartal B., 2013. Nitrogen removal by a nitrification-Anammox bioreactor at low temperature. *Applied & Environmental Microbiology* 79; 2807-2812.
- Zumft W. G., Viebrock A., Korner H., 1988. Biochemical and physiological aspects of denitrification. In : Cole JA & Ferguson SJ (Eds) *The Nitrogen and Sulphur Cycles*, 245-279. Press Syndicate of the University of Cambridge, Cambridge.

## **ANNEXE A – PROTOCOLE DE CONDUITE DES RÉACTEURS BATCH FED-BATCH EN VUE DE DÉTECTER PUIS SUIVRE LA CINÉTIQUE DE L'ACTIVITÉ DÉNITRIFIANTE DES BOUES DE LA MINE LARONDE**

### **Introduction et mise en contexte**

La gestion des effluents des mines d'or est un défi quotidien pour ces industries. La mine LaRonde appartenant à la société minière Agnico Eagle Ltée est l'une des leaders de ce domaine. La mine traite actuellement ses effluents en deux étapes : une étape chimique de destruction des cyanures par le peroxyde d'hydrogène avec un catalyseur (Usine UTE : unité de traitement de l'effluent) et une étape de traitement biologique pour la destruction des  $\text{SCN}^-$  en  $\text{CO}_3^{2-}$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$  et  $\text{NO}_3^-$  (Usine UTFE : unité de traitement final de l'effluent). Ce procédé de la mine génère des effluents concentrés en  $\text{NO}_3^-$  qui ne sont pas contrôlés par les réglementations actuelles. Cet effluent est susceptible d'être à l'origine de plusieurs problèmes environnementaux tels que l'eutrophisation et la salinisation des eaux de surface et des eaux sous-terraines. Pour ces raisons, la mine LaRonde se propose de dénitrifier ses effluents pour contourner ces problèmes et dangers potentiels. En effet, la dénitrification est un processus anaérobie qui ramène les  $\text{NO}_3^-$  (ou toute autre forme d'azote) en diazote gazeux ( $\text{N}_2$ ) inerte et non dangereux pour l'environnement. Avant de procéder à la dénitrification à grande échelle sur l'effluent de la mine, il faut tout d'abord s'assurer qu'une activité bactérienne dénitrifiante est présente dans les boues de la mine grâce à des essais Batch. Par la suite, essayer plusieurs scénarios de dénitrification en fed-Batch (source de carbone, donneur/accepteur d'électrons) pour pouvoir enfin conclure quant aux meilleurs scénarios à retenir pour la dénitrification avec écoulement et à échelle plus importante. Le passage par des essais Batch et fed-Batch permet de limiter les coûts, le temps des essais, un meilleur contrôle des paramètres à petite échelle, facilité d'intervention pour réparer tout déséquilibre de réaction (ex. augmentation de la concentration en oxygène).

### **Objectifs**

- Déterminer la présence ou non de l'activité dénitrifiantes des boues de la mine en batch
- Suivi de la cinétique de dénitrification selon plusieurs scénarios en fed-Batch

## Démarche

Pour chacun des deux objectifs mentionnés une démarche à part sera suivie. Les scénarios de dénitrification à tester sont les suivants :

- Scénario 1 : utiliser une source de carbone organique extérieure au système en place (éthanol, méthanol, BI et BP)
- Scénario 2 : utiliser une source de carbone minéral ; les  $\text{SCN}^-$  déjà existant dans le système pour ramener les  $\text{NO}_3^-$  en  $\text{N}_2$
- Scénario 3 : utiliser l'approche Anammox qui utilise le  $\text{N-NH}_3$  comme substrat par les bactéries pour ramener les  $\text{NO}_2^-$  et en partie les nitrates en diazote gazeux

## Matériel requis

- 3 erlenmeyer de 500 mL
- 3 bouchons d'erlenmeyer
- 12 cylindres gradués de 100 mL
- 12 clips pour tuyaux (minimum requis)
- 2 bacs de taille moyenne
- Bombonne de  $\text{N}_2$
- Éprouvettes stériles
- Balance de précision
- Étuve de  $20^\circ\text{C}$  munie d'une plaque agitatrice
- Papier parafilm
- Perceuse
- Tuyaux (moues et durs de petite section)
- Bec bunsen

## Équipement

- Spectrophotomètre (Cary 300 Bio)
- Chromatographe ionique (ICS-5000 BIONEX, colonne : Ion Pac<sup>TM</sup> AS18)
- GC/MS (GC : Agilent Technology 7890B, MS : Agilent Technologie 5977AMSD)
- Sondes :
  - pH : IntelliCAL<sup>TM</sup> pH PHC 101 + Multimètre : HQ40d multi Hach

- POR : IntelliCAL™ ORP-REDOX MTC 101 + Multimètre : HQ40d multi Hach
- oxygènes dissout : Hach LDO 101 + Multimètre : HQ40d multi Hach
- N-NH<sub>3</sub> : ORION Ammonia Electrode + Multimètre : SympHony sp80pi

## Réactifs

- Nitrate de calcium: Ca(NO<sub>3</sub>).4 H<sub>2</sub>O (Numéro CAS : 13477-34-4)
- Nitrite de potassium : KNO<sub>2</sub> (Numéro CAS : 7757-79-1)
- Thiocyanate de sodium : NaSCN (Numéro 540-72-7)
- Hydrogénophosphate de potassium : K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (Numéro CAS : 7758-11-4)
- Éthanol : C<sub>2</sub>H<sub>6</sub>O (64-17-5)
- Méthanol : CH<sub>3</sub>O (99%, Numéro CAS : 67-56-1)
- Acide phosphorique : H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> (75%, Numéro CAS : 7664-38-2)
- Sulfate d'ammonium : (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (Numéro CAS : 7783-20-2)
- BI et BP (le bois utilisé est le cèdre)
- Microorganismes (bactéries) : Boue de l'usine (boue récupérée du fond du décanteur final de l'unité de traitement biologique de LaRonde)

## Protocole de conduite des réacteurs batch en vue de détecter une activité bactérienne dans les boues

### Objectif

- Évaluer l'activité biologique des boues du décanteur récupérées de la mine

Afin d'atteindre cet objectif, les mélanges présentés dans le Tableau A.1 seront suivis en triplicata. Le Figure A. 2 présente les concentrations visées et les réactifs utilisés pour chaque mélange. Dans le cadre de cette partie de l'étude le volume à préparer est de 300 mL, pour chaque mélange.

Tableau A.1: Caractéristiques des mélanges

Bactéries	Scénario	Source d'énergie	Donneur d'électrons	mélange	Source de phosphore
Hétérotrophes	Carbone organique (1)	BP	NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	S1	K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>
			NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	S2	
		BI	NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	S3	
			NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	S4	
		Méthanol	NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	S5	
			NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	S6	
		Éthanol	NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	S7	
			NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	S8	
Autotrophes	Carbone minéral (2)	SCN <sup>-</sup>	NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	S9	
			NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	S10	
	Approche Anammox (3)	N-NH <sub>3</sub>	NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	S11	
			NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	S12	



Tableau A. 2: Réactifs et concentrations utilisés pour chaque mélange

Réactif	Concentrations visées (g/L)
$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$	0,4 de $\text{NO}_3^-$
$\text{KNO}_2$	0,4 de $\text{NO}_2^-$
$\text{NaSCN}$	0,4 de $\text{SCN}^-$
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	0,4 de $\text{NH}_4^+$
$\text{K}_2\text{HPO}_4$	0,018 de P
Méthanol ( $\text{CH}_4\text{O}$ )	6
Éthanol ( $\text{C}_2\text{H}_6\text{O}$ )	6
BI	8
BP	8

## Démarche

- Préparer l'étuve agitatrice : fixer la température à 20°C et mettre l'appareil en marche.
- Mettre chacun des mélanges préparés (S1 à S12) dans un erlenmeyer de 500 mL et ajouter 30 mL des boues récupérées de la mine LaRonde après centrifugation.
- Barboter chaque mélange avec le  $\text{N}_2$  pour une durée d'environ 2 minutes. (Il sera adéquat de mener le tuyau de la bombonne avec une éprouvette stérile pour minimiser les risques de contamination. Cette éprouvette peut être utilisée pour un même triplicata mais en aucun cas servir pour barboter deux mélanges différents).
- Parallèlement, entourer le bouchon de l'erlenmeyer avec du papier parafilm pour une meilleure étanchéité.
- Une fois les 2 minutes écoulées, rapidement, tirer le tuyau de la bombonne de  $\text{N}_2$  et boucher l'erlenmeyer fortement.
- Suivre la même opération pour chaque mélange.
- Mettre tous les mélanges dans l'incubateur et s'assurer qu'ils sont bien fixes et qu'il n'y a pas de contacts entre les erlenmeyer lors de l'agitation (Figure A. 1).
- Laisser la réaction se dérouler pour une à deux semaines



Figure A. 1: Montage des essais en Batch

### **Problème prévu et solution proposée**

Il se peut que les bouchons soient éjectés ou que le parafilm gonfle, ceci indique une production de gaz dans le milieu. Si le bouchon est éjecté, il faudra donc rebarboter avec l'azote gazeux le mélange et recéler comme il a été indiqué dans la partie « Démarrage des réacteurs ».

- Remarque :

Les résultats de ce test batch ont plutôt un but qualitatif que quantitatif. Si une activité dénitrifiante est suspectée, il est recommandé de refaire le test en changeant la configuration du système selon la deuxième partie du protocole qui sera détaillée dans ce qui suit.

### **Analyses à réaliser**

Il est à noter que ces essais en batch sont qualitatives et non quantitatives. Les analyses à réaliser sont résumées dans le Figure A. 3.

Tableau A. 3: Analyses à effectuer sur les essais en Batch

Analyse	Volume	Préservation /durée de conservation	Méthode d'analyse	Appareil de mesure
SCN <sup>-*</sup>	5 mL	Acidifier par HNO <sub>3</sub> (pH < 2) 4°C/14 jours	Dosage colorimétrique (Csikai et Barnard, 1983)	Spectrophotomètre
NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> /NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> /SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> /PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> *	2 mL	Non conservé Analyse dans les 24h	Chromatographie ionique (CEAEQ- MA.300, 2014)	Chromatographie ionique
N-NH <sub>3</sub> *	25 à 30 mL	Acidifier avec H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (pH < 2) 4°C /28 jours maximum	Dosage de N-NH <sub>3</sub> gazeux (APHA, 2012)	Sonde N-NH <sub>3</sub>

\* : échantillon filtré à 25 µm.

## **Protocole de conduite des réacteurs Fed-batch en vue de la cinétique de l'activité dénitrifiante des bactéries**

L'activité dénitrifiante des bactéries de la mine LaRonde a été prouvée suite aux tests batch effectués. Comme mentionné dans le protocole de « conduite des réacteurs batch en vue de détecter une activité dénitrifiante des bactéries », il est nécessaire maintenant de suivre la cinétique de près pour trancher quant aux meilleurs scénarios de dénitrification à suivre parmi ceux proposés dans la partie « démarche ».

### **Préparation des solutions réactives**

- Préparer des solutions comme le montre les tableaux Tableau A.1.
- Pour cette partie de l'étude le volume à préparer est de 300 mL.

### **Démarrage des réacteurs**

- Préparer l'étuve agitatrice : fixer la température à 20°C et mettre l'appareil en marche.  
Il est à noter que dans notre cas, nous avons mis une plaque agitatrice dans une chambre à température contrôlée à 20°C.
- Mettre 270 mL de chaque mélange préparé (S1 à S12) dans un erlenmeyer de 500 mL et ajouter 30 mL des boues récupérées de la mine LaRonde (dans le fond du clarificateur final du procédé de traitement biologique de la mine).
  - Pour une bonne précision du volume des boues à rajouter, centrifuger 40 mL des boues et calculer le volume du culot dans ces 40 mL. Exemple : un culot de 15 mL est récupéré après la centrifugation de 40 mL des boues, donc il faudra rajouter 80 mL de ces boues pour avoir 30 mL de microorganismes.
- Percer 3 trous dans les bouchons et y faire passer 3 tuyaux (Figure A. 2)
  - (1) tuyau qui plonge dans la solution sans atteindre la boue en bas du réacteur  
→ Servira pour le soutirage
  - (2) Tuyau qui traverse le bouchon pas nécessaire qu'il atteigne la solution  
→ Servira pour l'alimentation
  - (3) Tuyau long qui traverse le bouchon pour atteindre les bacs  
→ Servira pour l'acheminement du gaz produit vers les cylindres gradués

Remarque : les tuyaux qui traversent le bouchon doivent être durs. Par la suite des connections de tuyaux mous peuvent être utilisées.

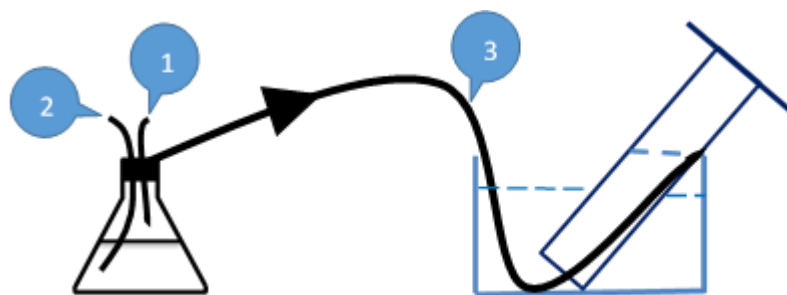


Figure A. 2: Schéma de la configuration du système de récupération par dénivellation du gaz produit dans les bioréacteurs

1 : Tuyau d'alimentation ; 2 : Tuyau de soutirage ; 3 : Tuyau de sortie de gaz

- Remplir les deux bacs à moitié avec l'eau de robinet et y mettre 6 cylindres gradués respectivement. Ces cylindres gradués seront renversés et remplis d'eau et par lesquels passent les tuyaux de sortie de gaz de chaque réacteur respectivement (Figure A. 2 et Figure A. 3).
- Mettre tous les mélanges dans l'incubateur et s'assurer qu'ils sont bien fixes et qu'il n'y a pas de contacts entre les erlenmeyer lors de l'agitation.
- Barboter chaque mélange avec le  $N_2$  pour une durée d'environ 2 minutes. (connecter le tuyau de la bombonne avec le tuyau de soutirage et laisser barboter).
- Remarque : Lors du barbotage, le tuyau de sortie de gaz sera juste plongé dans l'eau et pas introduit dans un cylindre gradué.
- Entre temps, entourer le bouchon de l'erlenmeyer avec du papier parafilm.
- Une fois les 2 minutes écoulées, étrangler le tuyau d'alimentation, puis le tuyau de soutirage et arrêter ainsi le barbotage.

Remarque : introduire le tuyau de sortie de gaz dans un cylindre gradué. Ceci va engendrer l'échappement des bulles de gaz emprisonnées dans le tuyau. Il va falloir donc ressortir le tuyau et refaire le remplissage du cylindre gradué puis réintroduire le tuyau de sortie de gaz. Répéter si c'est nécessaire.

- Suivre la même opération pour chaque mélange.
- S'assurer que l'espace est bien dégagé et démarrer l'agitation (Figure A. 3)
- Laisser la réaction se dérouler sur une période d'une semaine et veuillez de temps en temps que tous est en ordre.

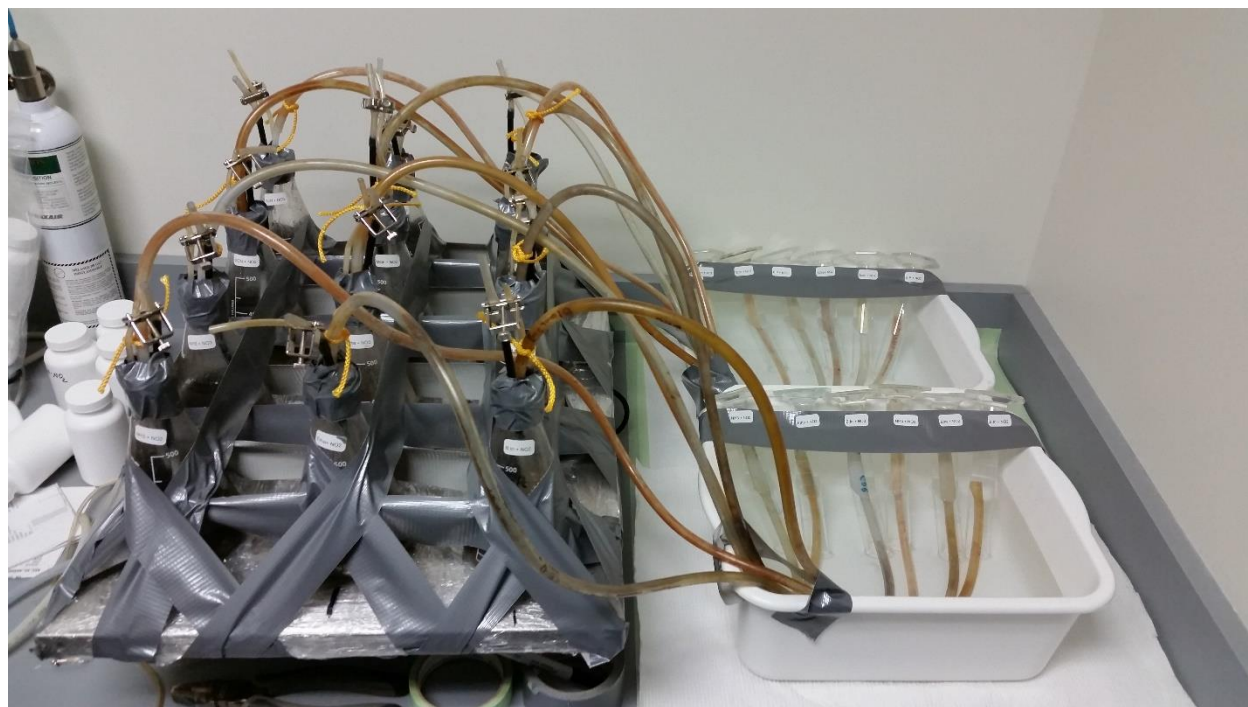


Figure A. 3: Montage des essais en fed-batch

## Suivi des réacteurs

Le principe d'un réacteur fed-batch consiste en une alimentation périodique en substrat et un suivi de certains paramètres physicochimiques ; c'est donc un réacteur semi-continu. Pour ce faire, un volume doit être soutiré du réacteur qui servira pour les analyses et qui sera remplacé par le même volume en solution initiale sans ajout des boues.

Dans ce cas, le volume prélevé est de 50 mL et est remplacé par le même volume d'une solution préparée selon le Tableau A.1. Avant de prélever ou d'alimenter le système il va falloir garder l'isolation hermétique en insérant des « clips » sur les tuyaux qui ne sont pas concernés par l'opération en cours (ex. pour le soutirage, insérer les « clips » sur le tuyau d'alimentation et le tuyau de sortie de gaz).

## Problèmes prévus

Il est possible que lors du soutirage ou de l'alimentation l'air rentre dans le réacteur. Dans ce cas, il faut rebarboter avec l'azote gazeux afin de conserver l'anaérobiose.

## Analyses à réaliser

Le Tableau A. 4 résume les analyses à réaliser sur l'effluent récupéré durant la période du suivi des réacteurs batch et fed-batch

Tableau A. 4 : Échantillonnage et analyses à réaliser

Analyse	Volume	Préservation /durée de conservation	Méthode d'analyse	Appareil de mesure
pH	20 mL	Non conservé Analyse immédiate	Sonde pH	Appareil Hach
POR			Sonde POR	
OD			Sonde Oxygène	
$\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-/\text{SO}_4^{2-}/\text{PO}_4^{3-}/\text{SCN}^-*$	2 mL	Non conservé Analyse dans les 24h	Chromatographie ionique (CEAEQ-MA.300, 2014)	Chromatographie ionique
N-NH <sub>3</sub>	25 à 30 mL	Acidifier avec H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (pH < 2) 4°C/28 jours maximum	Dosage de N-NH <sub>3</sub> gazeux (APHA, 2012)	Sonde N-NH <sub>3</sub>
Composition de gaz	5 mL de gaz minimum	Non conservé Analyse dans les 24h	Chromatographie phase gazeuse	Agilent 686980N

\* échantillon filtré à 25 µm.

## **ANNEXE B – PROTOCOLE DE CONDUITE DU RÉACTEUR CONTINU (AVEC ÉCOULEMENT) EN VUE D'ÉTUDIER LA CINÉTIQUE DE DÉNITRIFICATION BIOLOGIQUE SUR L'EFFLUENT RÉEL D'UNE MINE D'OR**

### **Introduction et mise en contexte**

L'industrie minière et particulièrement les mines d'or font face à un grand défi environnemental pour bien gérer leurs effluents. En effet, pour l'extraction de l'or, les mines d'or utilisent généralement un procédé de cyanuration des minerais qui est jusqu'à présent le procédé ayant l'efficacité de récupération d'or et d'argent la plus élevée ainsi qu'une cinétique importante. Par ailleurs, en fin de procédés on se trouve avec un effluent chargé en polluants que l'industrie devra traiter suivant des normes et des lois pour pouvoir le rejeter dans un milieu récepteur. Parmi les polluants majeurs on trouve les composés azotés qui proviennent de la cyanuration des minerais d'un côté mais aussi de l'utilisation des explosifs lors des étapes d'exploitation minières. Dans la présente étude, la mine LaRonde qui donne un grand intérêt aux approches biologiques de traitement a conçu un système de traitement de l'effluent sur deux étapes ; une étape chimique (UTE) et une étape biologique (UTFE). Le procédé chimique sur site permet de traiter la quasi-totalité des contaminants dans l'effluent sauf les  $\text{SCN}^-$  qui, elles, restent intactes en fin de cette étape. Pour cela, la mine a fait appel à un système de traitement biologique pour oxyder les  $\text{SCN}^-$  en  $\text{SO}_4^{2-}$ ,  $\text{CO}_3^{2-}$  et  $\text{N-NH}_3$ . De son tour, le  $\text{N-NH}_3$  poursuit son oxydation en  $\text{NO}_2^-$  par nitrification puis en  $\text{NO}_3^-$  par nitrification via un processus de nitrification bactérien. En fin de procédé de traitement on se trouve donc avec une eau fortement concentrée en nitrates que la réglementation actuelle n'impose aucune restriction vis-à-vis son rejet dans un milieu récepteur. Consciente du danger potentiel de ces concentrations en nitrates dans l'effluent final tel que l'eutrophisation et la salinisation des eaux, la mine se propose de trouver une alternative de traitement des composés azotés dans ses effluents pour diminuer la concentration en nitrates à la sortie tout en respectant les normes et les directives en vigueur. Raison pour laquelle, on se propose d'étudier l'approche de dénitrification sur l'effluent de la mine pour ramener la pollution azotée dans l'effluent en question en  $\text{N}_2$  ; molécule inerte sans aucun danger sur l'environnement.

Ce protocole est sujet d'une démarche laboratoire pour réaliser la dénitrification des effluents des mines d'or à échelle pilote en général et particulièrement sur l'effluent du site de LaRonde de la



société Agnico Eagle Ltée entre juillet et décembre 2016. Les résultats obtenus dans cette étude pourront varier d'un effluent à un autre dépendamment de la qualité initiale de l'effluent à traiter.

## Objectifs

Les objectifs de cette étude sont les suivants :

- Suivre la cinétique de dénitrification de l'effluent réel de la mine LaRonde avec écoulement
- Statuer sur l'efficacité du système à traiter la pollution azotée

## Matériel requis

- 5 chaudières de 20 L chacune.
- 1 cuve de 1 m<sup>3</sup> de l'effluent de la mine à la sortie du bassin 2 : après l'UTE et avant l'UTFE (chaque fois vidé, doit être rempli de nouveau)
- Des supports MBBR (Moving Bed Biofilm Reactor) pour les bactéries (récupérés de la mine)
- Boue (récupérée du fond du clarificateur final de la mine)
- 4 pompes péristaltiques (pompe : Cole-Parmer MasterFlex L/S, tête de pompe : Cole-Parmer MasterFlex 7518-00, tuyau : FisherBrand ¼ ID X 1/16 Wall)
- Perceuse
- Colle époxy
- 5 connecteurs de tuyaux (bout fileté : ½ pouce, bout de jonction : ½ pouce)
- Agitateurs
- Pompe doseuse munie d'un pH-mètre (BT PH—RX/MBB)
- 6 Nébuliseurs + 2 pompes d'aquarium assez puissantes (minimum)
- Tuyaux

## Équipements

- Spectrophotomètre (Cary 300 Bio)
- Chromatographe ionique (ICS-5000 BIONEX, colonne : Ion Pac™ AS18)
- GC/MS (GC : Agilent Technology 7890B, MS : Agilent Technologie 5977AMSD)
- TOC (TOC-V CPHA Shimadzu)
- Sondes :
  - pH : IntelliCAL™ pH PHC 101 + Multimètre : HQ40d multi Hach

- POR : IntelliCAL™ ORP-REDOX MTC 101 + Multimètre : HQ40d multi Hach
- oxygènes dissout : Hach LDO 101 + Multimètre : HQ40d multi Hach
- N-NH<sub>3</sub> : ORION Ammonia Electrode + Multimètre : Symphony sp80pi

## Réactifs

- Méthanol : CH<sub>2</sub>O (99%, Numéro CAS : 67-56-1)
- Acide phosphorique : H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> (75%, Numéro CAS : 7664-38-2)
- Carbonate de sodium : Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (Soda-ash) récupéré de l'usine

## Démarche

Afin d'atteindre les objectifs fixés dans le cadre de cette partie de l'étude, l'installation du réacteur continu doit passer par les grandes étapes suivantes :

- 1- Reproduire le système de nitrification de la mine à échelle laboratoire en batch
- 2- Mener la nitrification en continu (avec écoulement)
- 3- Débuter la dénitrification en batch
- 4- Mener la nitrification et la dénitrification en continu

En effet, ces étapes sont cruciales pour que les microorganismes ne subissent pas un stress environnemental par les nouveaux milieux dans lesquels ils seront incubés, faute de quoi, ces microorganismes perdront leurs activités et on aura un risque d'arrêt du système.

Pour une meilleure explication de la démarche suivie, chacune des grandes étapes précédemment mentionnées sera détaillée à part. Il est à noter que cette étude a été menée à une température contrôlée de  $20 \pm 5^\circ\text{C}$  entre juillet et décembre 2016.

### **1- Reproduire le système de nitrification à échelle de la mine en échelle laboratoire et en batch**

La nitrification est un des objectifs spécifiques de ce protocole. En effet, pour alléger les coûts du transport de l'effluent de la mine de chaque étage de traitement de l'unité de traitement biologique, on s'est proposé de récupérer uniquement l'effluent en sortie du bassin 2 (à la mine) et de reproduire à échelle laboratoire la nitrification. Ceci permettra aussi de contourner le problème de stabilité des nitrites lors du transport et de l'entreposage durant les essais, de réduire le volume de l'effluent à transporter et de réduire aussi l'espace de travail.

### Matériels et réactifs requis pour cette étape :

- 3 chaudières de 20 L
- MBBR récupérés de la mine des divers étages de l'unité de traitement biologique
- 3 agitateurs
- 6 Nébuliseurs + 2 pompes d'aquarium assez puissantes (minimum)
- Acide phosphorique (dilué à raison de 1 mL par litre)
- Carbonate de sodium

### Démarche :

- Mélanger V/V les MBBR avec l'effluent récupéré (10 L chacun) de la mine à la sortie de l'UTFE dans chacune des chaudières (les MBBR occupent réellement 25% uniquement du volume réactionnel)
- Installer les mélangeurs, les pompes d'aquarium et les nébuliseurs pour chaque chaudière (2 nébuliseurs par chaudière)
- Installer la pompe doseuse avec la consigne de pH = 7,4
- Ajouter dans chaque chaudière 2 mL environ d'acide phosphorique
- Laisser se dérouler la nitrification pour 2 à 3 jours

Le suivi de l'efficacité de nitrification se fera par une analyse par chromatographie ionique des  $\text{SCN}^-$ , nitrites et nitrates ainsi qu'une analyse de  $\text{N-NH}_3$  par une sonde spécifique. La Figure B. 1 explique le montage à réaliser dans cette étape du protocole.

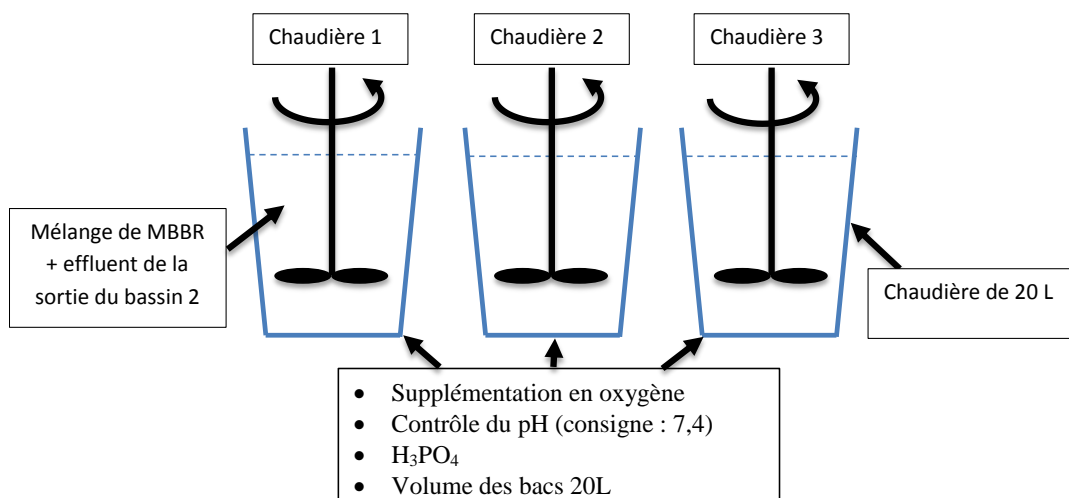


Figure B. 1: Schéma des chaudières installés pour la nitrification en batch

## 2- Mener la nitrification en continu (avec écoulement)

Une fois que les bactéries dans les chaudières digèrent les  $\text{SCN}^-$  et oxydent le  $\text{N-NH}_3$  qui en résulte en nitrite et nitrate, on peut passer à la nitrification en continu. Ceci sera simplement réalisé en ajoutant des tuyaux entre les 3 chaudières et en intégrant le bac de l'effluent récupéré de la sortie de l'UTFE avec un débit faible avant la 1<sup>ère</sup> chaudière. Dans cette étape, on vise à adapter les microorganismes à la variation de la concentration des divers éléments dans les chaudières. On va aussi favoriser le développement d'une communauté bactérienne par rapport à d'autres dans chaque chaudière. En effet, dans la 1<sup>ère</sup> chaudière on aura les bactéries qui sont responsables de l'oxydation des  $\text{SCN}^-$  en  $\text{N-NH}_3$ , dans la deuxième chaudière les bactéries prédominantes seront celles qui oxydent le  $\text{N-NH}_3$  en  $\text{NO}_2$  et dans la 3<sup>ème</sup> chaudière il y aura prédominance des bactéries qui continuent l'oxydation de  $\text{NO}_2$  en  $\text{NO}_3$ .

### Matériels requis pour cette étape :

- Perceuse
- Tuyaux
- Pompe péristaltique
- Colle époxy
- Connecteurs de tuyaux

### Démarche :

- Au niveau 20 L de chaque chaudière percer un trou de la même section que le connecteur de tuyau (section fileté)
- Mettre le connecteur de tuyau et utiliser la colle époxy pour bien le fixer et étanchéifier la jonction (figure B. 2)
- Connecter les tuyaux dans chacune des 3 chaudières
- Disposer les chaudières de façon à ce que chaque chaudière soit dans un niveau plus élevé que la suivante (figure B. 3)
- Pour l'alimentation en continue du réacteur de nitrification, utiliser la pompe péristaltique. Elle alimentera la 1<sup>ère</sup> chaudière depuis le bac de l'effluent récupéré de l'usine à la sortie de l'UTFE.
- Connecter les pompes doseuses à consigne de  $\text{pH} = 7,4$

- Connecter les pompes d'alimentation en acide phosphorique pour que la concentration soit d'environ 2 mg par litre d'eau traitée.

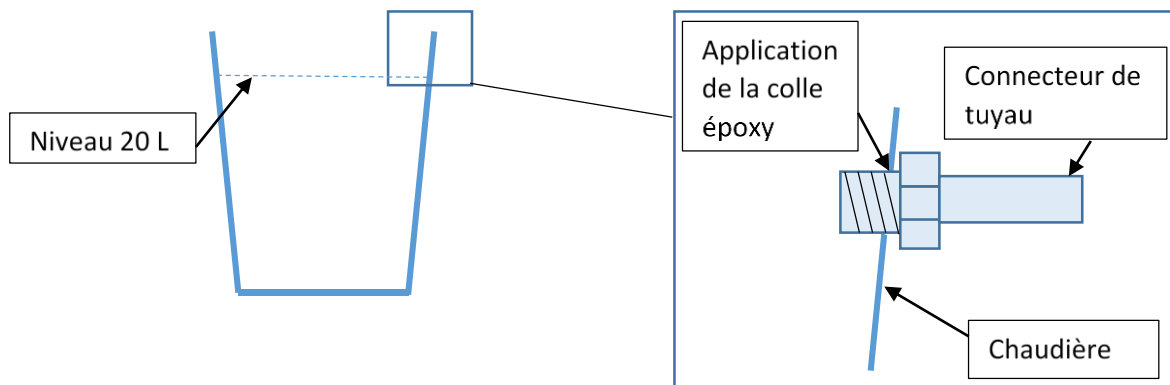


Figure B. 2: Schéma explication de l'installation du connecteur de tuyau sur une chaudière



Figure B. 3: Photo du montage montrant la disposition des chaudières

**NB :**

- Une fois la tête de pompe et les tuyaux fixés, la pompe doit être calibrée
- La colle époxy devrait sécher parfaitement avant la mise en marche, raison pour laquelle il est mieux que les chaudières soient trouées et les connecteurs fixés avant la 1<sup>ère</sup> étape de nitrification en batch

- Installer les chaudières l'une plus élevée que l'autre pour que l'eau déborde d'un réacteur vers un autre et on aura moins de pompage requis dans le système
- Vu que l'acide phosphorique est concentré, le débit à appliquer est trop faible et techniquement très difficile à réaliser. Il est donc conseillé de diluer 1000 fois l'acide concentré pour pouvoir appliquer un débit de pompe abordable à échelle laboratoire (0,11 mL/min).

### **3- Débuter la dénitrification en batch**

Pour la dénitrification en batch, elle est totalement indépendante de l'étape précédente, raison pour laquelle elle peut débuter en parallèle avec la mise en continu de la nitrification.

Cette étape a pour objectif d'adapter les bactéries à l'effluent et aussi de favoriser la croissance des bactéries dénitrifiantes. Deux approches seront testées dans le cas présent :

- 1) utiliser le SCN comme source de carbone minéral, pour les bactéries autotrophes dénitrifiantes
- 2) utiliser le méthanol comme source de carbone organique, pour les bactéries hétérotrophes dénitrifiantes.

#### Matériels et réactifs requis pour cette étape :

- Deux chaudières
- MBBR et boues de la mine récupérées du fond du clarificateur final de l'usine biologique de traitement
- 2 mélangeurs
- Acide phosphorique concentré
- Méthanol (100 mL dans 1 L)
- Cylindre gradué de volume 1L ou plus

#### Démarche :

- Préparer les mélanges des deux chaudières de dénitrification comme suit :
  - Pour l'approche de dénitrification par le SCN :
    - 8 L MBBR
    - 3 L boues
    - 5 L de la dernière chaudière de nitrification (dans laquelle il y a oxydation de  $\text{NO}_2^-$  en  $\text{NO}_3^-$ )

- 10 L de l'effluent à la sortie de l'UTFE
- Pour l'approche de dénitrification avec le méthanol :
  - 8 L MBBR
  - 3 L boues
  - 15 mL méthanol
  - Remplir le restant de la chaudière par l'effluent contenue dans la dernière chaudière de nitrification.
- Installer les agitateurs avec une vitesse faible
- Ajouter 2 à 3 mL d'acide phosphorique dans chaque chaudière
- Laisser la réaction se dérouler pendant 7 à 10 jours.

**NB :**

- Il ne faut pas que le brassage des chaudières soit violent ce qui provoquera la création de bulles d'air dans les chaudières et donc inhiber la dénitrification qui est anaérobie.
- Le suivi de l'efficacité de dénitrification se fait par bilan d'azote sur les  $\text{SCN}^-$ ,  $\text{N-NH}_3$ ,  $\text{NO}_2^-$  et  $\text{NO}_3^-$ .

**4- Mener la nitrification et la dénitrification en continu**

Une fois la dénitrification en batch est réalisée, on peut maintenant relier tout le système depuis l'entrée à la sortie pour réaliser à la fois la nitrification et la dénitrification selon les deux approches mentionnées précédemment.

**Matériels requis pour cette étape :**

- Perceuse
- Tuyaux
- Connecteurs de tuyaux
- Colle époxy
- 2 pompes péristaltiques

Démarche :

- Comme dans le cas de la mise en continu de la nitrification, trouser avec la perceuse au niveau 20 L les deux chaudières de dénitrification
- Fixer les connecteurs de tuyaux et les tuyaux à l'aide de la colle époxy (voir la démarche dans 2ème étape du protocole)
- Intégrer une pompe de recirculation entre la 3ème chaudière de nitrification et le bac de dénitrification par les SCN (la recirculation est de 50%)
- Intégrer une pompe péristaltique qui alimente le méthanol dans la chaudière de dénitrification utilisant le méthanol
- Les deux figures suivantes montrent le schéma et la photo réelle du montage réalisé.

NB :

- Tout comme la contrainte pratique de l'ajout de l'acide phosphorique par la pompe péristaltique, le méthanol est dilué à raison de 100 mL dans 1 L d'eau distillée et pompé à 0,12 mL/min dans la chaudière correspondante.

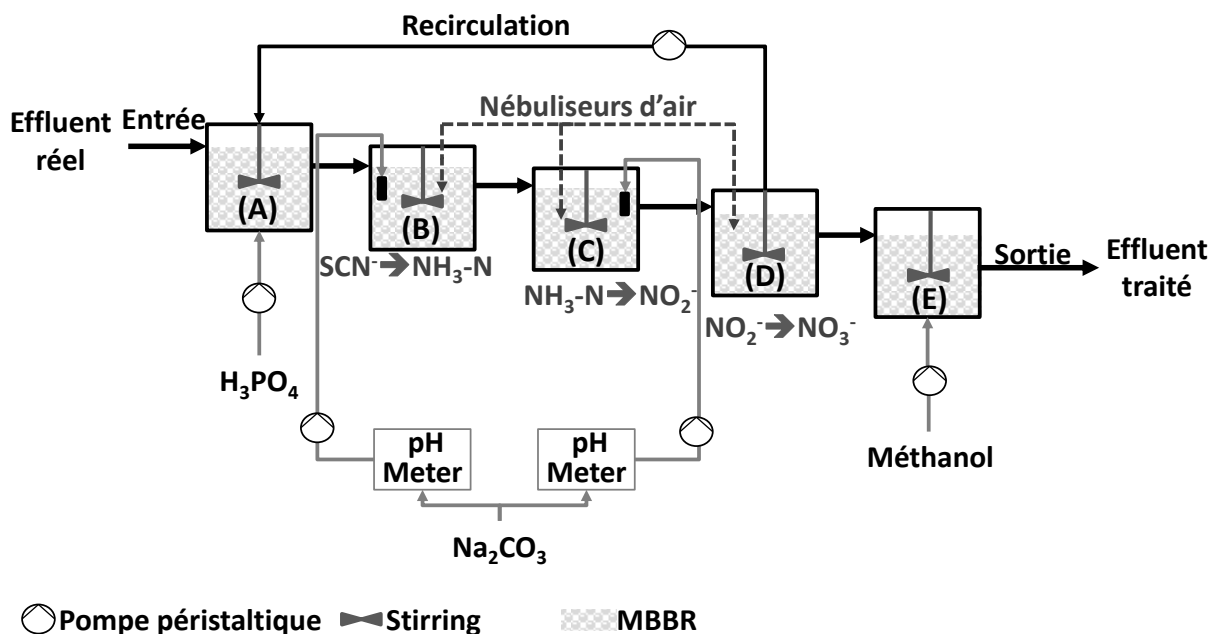


Figure B. 4: Schéma du montage de nitrification-dénitrification au complet



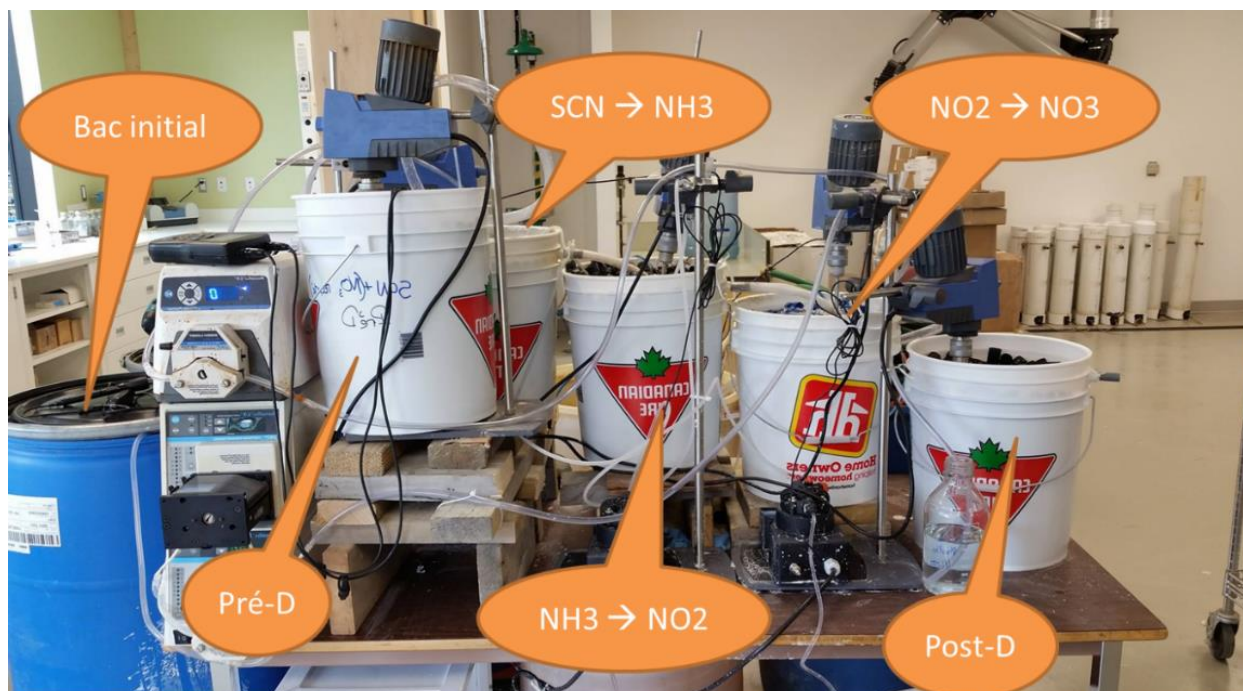


Figure B. 5: Montage final du système de nitrification-dénitrification de l'effluent de la mine

Le tableau suivant synthétise les conditions opératoires de chacune des chaudières dans ce montage :

Tableau B. 1: Conditions opératoires des 5 chaudières montées en série

Réacteur	1	2	3	4	5
Fonction	Dénitrification par les SCN	Dégradation des SCN	Nitrification	Nitrification	Dénitrification par le méthanol
Réaction cible	SCN → (CNO) NH <sub>3</sub> NO <sub>3</sub> → N <sub>2</sub>	SCN → (CNO) NH <sub>3</sub>	NH <sub>3</sub> → NO <sub>2</sub>	NO <sub>2</sub> → NO <sub>3</sub>	NO <sub>3</sub> → N <sub>2</sub>
Volume total	20 L				
Remplissage	10 L MBBR				
Volume occupé par les MBBR	2,5 L				
Volume réactionnel	17.5 L				
Aération	Non	Oui	Oui	Oui	Non
Agitation	100-200 rpm	300-400 rpm	300-400 rpm	300-400 rpm	100-200 rpm
Contrôle du pH	non	7,4 avec le carbonate de sodium	7.4 avec le carbonate de sodium	non	Non
Alimentation	Effluent SCN (400 à 550 ppm) par un débit : 20 à 40 mL/min + recirculation de la chaudière de nitrification (9 à 20 mL/min) + acide phosphorique (concentration cible : 2ppm)	Réacteur 1 + Carbonate de sodium par la pompe doseuse en cas de besoin (pH de la consigne : 7,4)	Réacteur 2 + Carbonate de sodium par la pompe doseuse en cas de besoin (pH de la consigne : 7,4)	Réacteur 3	Réacteur 4 + méthanol dilué à 100 ou 200 mL dans 1 L d'eau et à débit entre 0,1 et 0,2 mL/min)
Source de nutriments	Acide phosphorique 75% avec une dilution variant entre 1/1000 et 15/1000 (cible 2 ppm)	Non (acide phosphorique résiduel)	Non (acide phosphorique résiduel)	Non (acide phosphorique résiduel)	Méthanol (dilué à 100 ou 200 mL dans 1 L d'eau et à débit entre 0,1 et 0,2 mL/min)
TRH	5 à 13 h				8 à 21 h

## Problèmes prévus et solutions proposées

Les problèmes auxquels le manipulateur fera face sont les suivant :

- Risque de débordement : En effet, dans les 3 chaudières de nitrification, vu que les MBBR sont plus en suspension que dans les 2 autres chaudières de dénitrification, celles-ci peuvent venir boucher la sortie de l'effluent vers le réacteur suivant et ainsi l'effluent sera accumulé dans la chaudière ayant ce problème jusqu'à débordement.
  - o Solution proposée : Prendre une bouteille en plastique, la trouser plusieurs trous et la fixer avec un attache en plastique au niveau de la sortie de l'effluent vers le tuyau.
- Risque d'arrêt de système : l'équilibre bactérien dans ce cas est fragile. Une variation de pH ou de la concentration en oxygène dissout peut causer l'arrêt de système.
  - o Solution proposée : le suivi des paramètres doit être fait judicieusement surtout durant le 1<sup>er</sup> mois du suivie (2 à 3 fois par semaine).
- Usure des tuyaux des pompes : les tuyaux appliqués dans les pompes péristaltiques s'usent surtout dans ce cas ou les pompes fonctionnent 24h/24h 7j/7j.
  - o Solution proposée : Vérifier périodiquement l'état des tuyaux et s'assurer qu'il y a toujours un tuyau disponible pour les remplacements en cas d'usure.
- Usure des nébuliseurs : En fur et à mesure du déroulement de la réaction, les nébuliseurs utilisés vont être dégradés et ne pourront plus assurer leur tâche de produire de fines bulles d'air aidant à l'oxydation des composés azotés.
  - o Solution proposée : Vérifier l'état des nébuliseurs et la taille des bulles produites et les changer en cas d'usure.
- Arrêt de système lors de l'augmentation de débit : Lors de l'augmentation de débit pour pousser le système à son efficacité maximale, il se peut que les bactéries se trouvent inhibés par excès de substrat ce qui causera l'arrêt de système.
  - o Solution proposée : En cas d'augmentation de débit, augmenter la fréquence de suivi des paramètres. Si il y a arrêt de système, il est conseiller de retourner à la dernière valeur de débit ayant montré une efficacité de traitement et procéder si nécessaire à la dilution des chaudières ou il y a accumulation d'une entité chimique particulière. Exemple : augmentation de débit d'entrée, ce qui va engendrer moins de temps pour les bactéries dans le 1<sup>er</sup> bac de nitrification qui oxydent les  $\text{SCN}^-$ , donc on se trouve dans les chaudières

suivantes avec des concentrations élevées de  $\text{SCN}^-$  vu que les bactéries qui les oxydent ne sont pas majoritaires dans les autres chaudières).

## Analyses à réaliser

Le tableau B. 2 résume les analyses à réaliser sur l'effluent récupéré durant la période du suivi des réacteurs batch et fed-batch

Tableau B. 2: Échantillonnage et analyses à réaliser

Analyse	Volume	Préservation/durée de conservation	Méthode d'analyse	Appareil de mesure
pH	Sonde plongée directement dans la chaudière en question	-	Sonde pH	Appareil Hach
POR		-	Sonde POR	
Oxygène dissout		-	Sonde Oxygène	
$\text{SCN}^*$	5 mL	Acidifier par $\text{HNO}_3$ ( $\text{pH} < 2$ ) 4°C/14 jours	Dosage colorimétrique (Csikai et Barnard, 1983)	Spectrophotomètre
$\text{NO}_2/\text{NO}_3/\text{SO}_4^{2-}/\text{PO}_4^{3-*}$	2 mL	Non conservé Analyse dans les 24h	Chromatographie ionique (CEAEQ-MA.300, 2014)	Chromatographie ionique
$\text{N-NH}_3^*$	25 à 30 mL	Acidifier avec $\text{H}_2\text{SO}_4$ ( $\text{pH} < 2$ ) 4°C /28 jours maximum	Dosage de $\text{N-NH}_3$ gazeux (APHA, 2012)	Sonde $\text{N-NH}_3$
Carbone organique total*	15 à 20 mL	$\text{H}_3\text{PO}_4$ /28 jours maximum	Oxydation par l'acide phosphorique	Appareil TOC
Composition de gaz	5 mL de gaz minimum	Non conservé Analyse dans les 24h	Chromatographie phase gazeuse + Spectroscopie de masse	GC/MS

\* : échantillon filtré à 25  $\mu\text{m}$ .

## ANNEXE C – BILAN D'AZOTE DES ESSAIS EN BATCH ET EN FED-BATCH

Tableau C. 1 : Bilan d'azote des essais conduits en batch et en fed-batch

Mélange	SCN <sup>-</sup> + NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>								SCN + NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>							
Test	Batch				Fed-batch				Batch				Fed-batch			
Date	12-janv		20-janv		22-janv		26-janv		12-janv		20-janv		22-janv		26-janv	
Entrée/Sortie	Entrée	Sortie	Entrée	Sortie	Entrée	Sortie	Entrée	Sortie	Entrée	Sortie	Entrée	Sortie	Entrée	Sortie	Entrée	Sortie
N total	386,88	22,91	65,64	12,26	51,40	23,36	68,29	39,21	522,98	101,02	113,88	136,17	106,96	120,74	94,214	102,58

Mélange	N-NH <sub>3</sub> + NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>								N-NH <sub>3</sub> + NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>							
Test	Batch				Fed-batch				Batch				Fed-batch			
Date	12-janv		20-janv		22-janv		26-janv		12-janv		20-janv		22-janv		26-janv	
Entrée/Sortie	Entrée	Sortie	Entrée	Sortie	Entrée	Sortie	Entrée	Sortie	Entrée	Sortie	Entrée	Sortie	Entrée	Sortie	Entrée	Sortie
N total	1016,17	103,00	238,52	173,74	327,64	181,53	245,27	196,95	878,38	99,10	254,26	225,16	347,55	207,37	310,67	245,86

Mélange	BP + NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>								BP + NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>							
Test	Batch				Fed-batch				Batch				Fed-batch			
Date	12-janv		20-janv		22-janv		26-janv		12-janv		20-janv		22-janv		26-janv	
Entrée/Sortie	Entrée	Sortie	Entrée	Sortie	Entrée	Sortie	Entrée	Sortie	Entrée	Sortie	Entrée	Sortie	Entrée	Sortie	Entrée	Sortie
N total	297,06	10,32	115,46	82,96	125,66	96,27	164,51	142,28	459,78	39,03	76,63	46,05	81,37	39,75	83,74	21,32

Mélange	BI + NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>								BI + NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>							
Test	Batch				Fed-batch				Batch				Fed-batch			
Date	12-janv		20-janv		22-janv		26-janv		12-janv		20-janv		22-janv		26-janv	
Entrée/Sortie	Entrée	Sortie	Entrée	Sortie	Entrée	Sortie	Entrée	Sortie	Entrée	Sortie	Entrée	Sortie	Entrée	Sortie	Entrée	Sortie
N total	292,60	52,13	50,10	56,14	50,03	61,45	60,95	57,40	436,08	35,86	63,99	48,86	68,73	48,34	71,1	33,56

Tableau C.1 : Bilan d'azote des essais conduits en batch et en fed-batch (Suite)

Mélange	MeOH + NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>								MeOH + NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>							
Test	Batch		Fed-batch						Batch		Fed-batch					
Date	12-janv		20-janv		22-janv		26-janv		12-janv		20-janv		22-janv		26-janv	
Entrée/Sortie	Entrée	Sortie	Entrée	Sortie	Entrée	Sortie	Entrée	Sortie	Entrée	Sortie	Entrée	Sortie	Entrée	Sortie	Entrée	Sortie
N total	296,92	0,25	53,56	3,51	53,56	3,23	54,28	1,76	459,78	3,46	78,21	8,86	77,42	8,67	73,47	6,89

Mélange	EtOH + NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>								EtOH + NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>							
Test	Batch		Fed-batch						Batch		Fed-batch					
Date	12-janv		20-janv		22-janv		26-janv		12-janv		20-janv		22-janv		26-janv	
Entrée/Sortie	Entrée	Sortie	Entrée	Sortie	Entrée	Sortie	Entrée	Sortie	Entrée	Sortie	Entrée	Sortie	Entrée	Sortie	Entrée	Sortie
N total	296,85	65,14	49,10	52,98	50,61	48,27	52,91	43,05	439,24	36,96	73,47	37,98	72,68	41,67	71,89	41,98

**ANNEXE D – PREUVE DE LA SOUMISSION DE L'ARTICLE AUPRÈS  
DU JOURNAL « PROCESS BIOCHEMISTRY »**

This message was sent automatically. Please do not reply.

Ref: PRBI\_2016\_147

Title: Efficiency of nitrogen removal during thiocyanate treatment in gold mine effluents with mineral and organic carbon sources

Journal: Process Biochemistry

Dear Dr. Neculita,

Thank you for submitting your manuscript for consideration for publication in Process Biochemistry. Your submission was received in good order.

To track the status of your manuscript, please log into EVISE® at: [http://www.evise.com/evise/faces/pages/navigation/NavController.jspx?JRNL\\_ACR=PRBI](http://www.evise.com/evise/faces/pages/navigation/NavController.jspx?JRNL_ACR=PRBI) and locate your submission under the header 'My Submissions with Journal' on your 'My Author Tasks' view.

Thank you for submitting your work to this journal.

Kind regards,

Process Biochemistry

Have questions or need assistance?

For further assistance, please visit our Customer Support site. Here you can search for solutions on a range of topics, find answers to frequently asked questions, and learn more about EVISE® via interactive tutorials. You can also talk 24/5 to our customer support team by phone and 24/7 by live chat and email.

-----  
Copyright © 2016 Elsevier B.V. | Privacy Policy

Elsevier B.V., Radarweg 29, 1043 NX Amsterdam, The Netherlands, Reg. No. 33156677.